

Aus der Abteilung für klinische Immunologie und
Asthma-Poliklinik der Freien Universität Berlin
(Wissenschaftliche Einrichtung 15, Fachbereich 3)
Leitender Arzt: Professor Dr. med. Gert Kunkel

NÄCHTLICHES ASTHMA BRONCHIALE: TAGESZEITLICHE SCHWANKUNGEN DER HISTAMINFREISETZUNG AUS BASOPHILEN GRANULOZYTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Lukas Jusuf
aus Jakarta

1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546612_0017

Aus der Abteilung für klinische Immunologie und
Asthma-Poliklinik der Freien Universität Berlin
(Wissenschaftliche Einrichtung 15, Fachbereich 3)
Leitender Arzt: Professor Dr. med. Gert Kunkel

NÄCHTLICHES ASTHMA BRONCHIALE:
TAGESZEITLICHE SCHWANKUNGEN DER HISTAMINFREISETZUNG
AUS BASOPHILEN GRANULOZYTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Lukas Jusuf
aus Jakarta

Referent: Professor Dr. med. Gert Kunkel

Korreferent: Proffesor Dr. med. H. Lode

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 7. Februar 1985

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. EINLEITUNG	6
2. FRAGESTELLUNG	8
3. BEREITS VORLIEGENDE UNTERSUCHUNGEN	9
3.1. <u>Biologische Rhythmen beim Menschen</u>	9
3.2. <u>Mastzellen und basophile Granulozyten</u>	11
3.3. <u>Histaminfreisetzung</u>	14
3.3.1. IgE-vermittelte Reaktion	14
3.3.2. IgE-unabhängige Reaktion	21
3.3.3. Antagonisten der Histaminfreisetzung	21
3.4. <u>Mediatoren der Allergie und Entzündung</u>	23
3.4.1. Histamin	24
3.4.1.1. Histamin und Anaphylaxie - historischer Überblick	24
3.4.1.2. Histaminsynthese	25
3.4.1.3. Histaminverteilung	26
3.4.1.4. Histaminabbau	26
3.4.1.5. Histaminwirkung	28
3.4.1.6. Histamin-Antagonisten	32
3.4.1.7. Nachweismethoden	34
4. PATIENTENGUT, MATERIAL UND METHODEN	36
4.1. <u>Patientenkollektiv</u>	36
4.1.1. Patienten mit Asthma bronchiale	36
4.1.2. Kontrollgruppe	37
4.2. <u>Untersuchungsdesign und -ablauf</u>	39
4.2.1. Untersuchungsdesign	39
4.2.2. Untersuchungsablauf	39

	<u>Seite</u>
4.3. <u>Die Prozedur der Histaminfreisetzung</u>	40
4.3.1. Leukozytenvorbereitung	41
4.3.2. Allergenverdünnung	41
4.3.3. Inkubation	42
4.3.4. Histaminmessung	43
4.3.4.1. Reaktionsablauf	43
4.3.4.2. Bedienungshinweise	44
4.3.4.3. Auswertung	45
4.3.4.4. Reagenzien	45
5. <u>ERGEBNISSE</u>	47
5.1. <u>Peakflow-Messungen</u>	47
5.2. <u>Gesamthistaminfreisetzung aus basophilen Granu - lozyten</u>	51
5.3. <u>Verhältnis der niedrigsten Werten von totalen Histaminfreisetzung und Peakflow untereinander..</u>	51
5.4. <u>Histaminfreisetzung mit Hausstaubextrakt</u>	52
5.5. <u>Medikamenten-Verbrauch</u>	61
5.6. <u>Besondere Vorkommnisse</u>	61
6. <u>DISKUSSION</u>	63
6.1. <u>Totale Histaminfreisetzung</u>	63
6.2. <u>Histaminfreisetzung mit verschiedenen Allergen- konzentrationen</u>	65
6.2.1. Non responder	67
6.3. <u>Andere diskutierte Pathomechanismen der nächt- lichen Asthmaanfälle</u>	68
6.4. <u>Therapie der nächtlichen Asthma bronchiale</u>	71

Seite

7.	ZUSAMMENFASSUNG	74
8.	LITERATURVERVERZEICHNIS	76
9.	LEBENS LAUF	94

1. EINLEITUNG

Es entspricht der ärztlichen Erfahrung, daß Asthmaattacken und ausgeprägte Dyspnoezustände vor allem in der Ruhephase des Menschen, also in der Nacht, auftreten (SOUTAR et al., 160; HETZEL und CLARK, 63). Bereits der aus Kappadozien stammende Arzt, ARETAIOS (81 - 138 n.Chr.) hat in seiner Beschreibung über das Asthma bronchiale mit den heute noch als hervorstechend angesehenen Symptomen unter anderem die Schlaflosigkeit und die Verbesserung des Schlafes nach dem Anfall erwähnt, ohne dabei den Zeitpunkt des Auftretens zu nennen (SCHADEWALD, 171).

Schon genauer finden wir die Beschreibung über die nächtlichen Asthmaanfälle in der Monographie aus dem Jahre 1698 des englischen Arztes, SIR JOHN FLOYER (1649 - 1734), der selbst an Asthma bronchiale litt. In dieser Monographie ist folgende Passage zu lesen :

" At first at two o'clock in the night the fit begins, the breath is very slow, but after a little time more strait, the diaphragm seems stiff and tied and is with difficulty moved downwards, but etc " (SCHADEWALD, 171).

Auch BREE (17.Jahrhundert) und SALTER (1882) schilderten den typischen Asthmaanfall während der Nacht und das Bedürfnis der Patienten dabei, sich aufzurichten (SOUTAR et al., 160; SCHADEWALD, 171).

Das häufige Auftreten der Asthmaanfälle in den Nachtstunden ist eine geläufige Tatsache, die Zusammenhänge sind aber erst in den letzten Jahren, besonders durch die Arbeiten der Gruppen um BARNES und HETZEL, klarer geworden.

Die Untersuchungen über nächtliche Asthmaanfälle wurden nicht zuletzt durch die Entwicklung eines einfachen handlichen Peak-flowmeters unterstützt. Mit diesem Gerät kann der Patient zu Hause - ähnlich der Blutdruckmessung beim Hypertoniker - die maximale expiratorische Atemstromstärke ("Peakflow") messen

(MAGNUSSEN und LITT., 106). Damit konnten viele Fälle von Asthma bronchiale bei Patienten aufgedeckt werden, die sonst am Tage beschwerdefrei waren (HETZEL und CLARK, 64). Die Bedeutung des nächtlichen Asthma bronchiale wird noch dadurch unterstrichen, daß der plötzliche Tod bei Asthmapatienten überwiegend in den Morgenstunden eintritt (COCHRANE et al., 32; HETZEL et al., 65).

So alt wie dieses Phänomen ist, so viele Untersuchungen sind unternommen worden, um die Ursache dieses Symptoms zu erklären. Man hat zum Beispiel die Hausstaubmilben, die Schlafposition, die Lungensekretretention, ja sogar den Schlaf selbst als Ursache angeschuldigt (MAUNSELL et al., 112; BRYAN et al., 25; BATEMAN et al., 16; HETZEL und CLARK, 63).

Ferner wurden auch Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen der Hormone wie Cortisol, Adrenalin und anderer biochemischer Substanzen durchgeführt, die bei der Regulierung des Bronchialtonus eine Rolle spielen (BARNES et al., 13; FAIRFAX et al., 45 ; REINBERG et al., 142; SOUTAR et al., 159; de VRIES et al., 180).

Das Verständnis der zum nächtlichen Abfall des Peakflow führenden Zusammenhänge ist wichtig für eine effektive Therapie. In der Praxis ist es z.T. recht schwierig, die nächtlichen Anfälle medikamentös anzugehen, ohne daß die Schlafqualität beeinträchtigt wird.

2. FRAGESTELLUNG

In der Literatur gibt es zahlreiche Versuche, das Phänomen der nächtlichen bzw. frühmorgendlichen Asthmaanfälle zu erklären. Man kann daraus bereits schließen, wie wichtig dieses Bemühen für die Verbesserung des Schlafs, ja der Lebensqualität der Asthmapatienten ist.

Ferner führt das Bestreben der Ärzte, das Asthma bronchiale so streng wie möglich nach pathophysiologischen Gesichtspunkten zu behandeln - um eine Polypragmasie zu vermeiden- unter anderem dazu, daß der cirkadianen Rhythmik der verschiedenen biochemischen und immunologischen Vorgänge mehr Gewichtung zukommt. Die cirkadiane Rhythmik des Plasmahistamingehalts, des c-AMP's, des Cortisols und der Katecholamine (BARNES et al., 13) wurde bereits untersucht.

Auch liegen Arbeiten über Theophyllin (KUNKEL et al., 94), die die cirkadiane Rhythmik in therapeutische Überlegungen mit einbeziehen vor.

In der vorliegenden Arbeit soll die Frage diskutiert werden, ob auch für die Histaminfreisetzung (Histamine release) eine cirkadiane Rhythmik festzustellen ist.

Weiterhin soll der Zusammenhang zwischen dem bereits bekannten Peakflow(PF)-Abfall in den Morgenstunden und der Histaminfreisetzung untersucht werden.

3. BEREITS VORLIEGENDE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Biologische Rhythmen beim Menschen

Durch die gewonnenen Erkenntnisse der biologischen Rhythmussforschung steht heute fest, daß alle lebenden Organismen, vom eukaryoten Einzeller bis zum hochkomplizierten Primaten einschließlich Menschen einer periodisch ablaufenden zeitlichen Organisation ihrer Funktion unterliegen. Diese besteht aus einem funktionell vernetzten Spektrum von Rhythmen, deren Periodenlängen von Millisekunden bis zu Jahren, und von jahreszeitlichen Schwankungen verschiedener Körperfunktionen bis zu momentanen Änderungen des Herzrhythmus oder der hirnelektrischen Aktivität reichen (von MAYERSBACH, 114).

Die biologischen Rhythmen sind ein Resultat der Adaptation und der Synchronisation des Organismus auf exogene periodische Umwelteinflüsse und auf endogene Faktoren (WEVER, 184).

Für das phasengerechte Ineinandergreifen einzelner endogener Rhythmen ist nicht nur ein einziger übergeordneter endogener Rhythmus bzw. eine einzige sogenannte "innere Uhr" verantwortlich (BÜNNING, 27), sondern auch der Eigenrhythmus eines jeden Organsystems (WEVER, 183).

In Abhängigkeit von ihrer Dauer unterteilt man die biologische Rhythmen in Ultradian, Zirkadian, Infradian. Es gibt noch eine weitere Unterteilung dieser biologischen Rhythmen (Tab.1). Beispiele für jahreszeitliche Schwankungen- bezogen auf die Lunge- sind Verschlimmerung des Asthma während der Pollensaison bei dem Pollinotiker, sowie die Inzidenzrate bei Bronchitiden. Die morgendliche Rhinitis bei Hausstaubmilbenallergikern könnte als cirkadian bezeichnet werden. Auch zum cirkadianen Rhythmus gehört der nächtliche PF-Abfall des Asthmapatienten, der auch beim Gesunden, aber weniger stark ausgeprägt vorhanden ist. Beim Menschen sind außer Puls, Atmung und Körpertemperatur, deren Tagesperiodik schon lange bekannt ist, auch zir-

kadiane Rhythmen von der zellulären Zusammensetzung des Blutes, Plasmaspiegel von Hormonen, Elektrolytkomponenten, Leber- und Nierentätigkeit (ASCHOFF, 6) bekannt.

Da Anpassungsfähigkeit und funktionelle Komplexität biologischer Systeme keine exakte Konstanz der Periodenlängen aufweisen, hat KLAGES die Rhythmen nur als "Wiederkehr von Ähnlichem in ähnlichen Zeitabständen" bezeichnet (COMAISH, 34).

Durch das zeitliche Zusammenwirken von nervalen, hormonalen und zellulären Funktionsrhythmen, die teils synchron, teils asynchron bzw. phasenverschoben zueinander ablaufen, entsteht eine Zeitstruktur, die in ihrer Gesamtheit als die "zirkadiane Organisation" des Menschen bezeichnet wird.

Unter diesem Aspekt muß auch das Problem der nächtlichen Asthmaanfälle betrachtet werden.

Bezeichnung	Lateinische Ableitung		Spektralbereich der Periodenlängen
Ultradian	ultra dies	= jenseits = Tag	1 bis 20 Stunden
Zirkadian	circa dies	= ungefähr = Tag	20 bis 28 Stunden
Infradian	infra dies	= unterhalb = Tag	1,6 bis 5 Tage
Zirkaseptan	circa septem	= ungefähr = sieben	6 bis 8 Tage
Zirkavigintan	circa viginti	= ungefähr = zwanzig	17 bis 23 Tage
Zirkatrigintan	circa triginti	= ungefähr = dreißig	ungefähr 30 Tage
Zirkannual	circa annus	= ungefähr = Jahr	ungefähr 365 Tage

Tab.1 : Nomenklatur zirkametrischer Perioden nach HELLBRÜGE et al.(59).

3.2. Mastzellen und basophile Granulozyten

Seit der Beschreibung von Mastzellen und basophilen Granulozyten durch PAUL EHRLICH, haben zahlreiche Erkenntnisse auf dem Gebiet der Immunologie und Zellbiologie die Bedeutung dieser Zellen im Abwehrsystem des Organismus aufgezeigt, vor allem bei den allergischen Erkrankungen.

Mastzellen und basophile Granulozyten haben gemeinsame Charakteristika im Hinblick auf die Metachromasie ihrer Granulen, die PAUL EHRLICH damals als die Nahrung dieser Zellen angenommen hat, und das Vorhandensein von Zelloberflächenrezeptoren für den Fc-Anteil des Ig E (KÖNIG et al., 87; PRUZANSKY, 139).

Neben diesen Gemeinsamkeiten bestehen ebenfalls zahlreiche Unterschiede zwischen diesen Zellen. Die basophile Granulozyten stammen aus dem Knochenmark und zirkulieren im peripheren Blut. Die Fähigkeit der Mastzellen, in das Gewebe einzuwandern besitzen die Basophilen nicht. Jedoch können sie über chemotaktische Faktoren und T-Cell-abhängige Regulationsvorgänge im Rahmen spezifischer immunpathologischer Vorgänge im Gewebe akkumulieren, besonders im Darm und in der Haut (ASKENASE, 8). In der Haut ist dieses Phänomen als kutane basophile Hypersensitivität (CBH) bekannt (ASKENASE, 8; GÖTZE und DIAS DA SILVA, 51).

Die Herkunft der Mastzellen ist bis heute noch ungeklärt. Es gibt Hinweise, daß sie ebenfalls aus dem Knochenmark stammen (KALINER, 79; KAWABORI et al., 82). GINSBURG (50) und KALINER (79) haben gezeigt, daß Mäusemastzellen sich aus lymphatischen Geweben (Thymus, Lymphknoten) entwickeln. Die Tatsachen, daß die Mastzellen im peripheren Blut nicht zirkulieren und die fehlende Reifung im Knochenmark lassen darauf schließen, daß die Vorläuferzellen in das Gewebe einwandern und sich dort in Mastzellen umwandeln (KÖNIG et al., 87). Nach einer nasalen Provokation konnten HASTIE et al. (58) basophile Granulozyten im Nasensekret finden,

während die Mastzellen in Abstrichen und Gewebsproben der Nasenschleimhaut zu finden waren. Ihre Schlußfolgerung, daß die Basophilen durch das Epithel und die Mastzellen in das Gewebe wandern, unterstützt die oben genannte Annahme.

Ferner ist es CZARNETZKI und KRÜGER (40) gelungen, durch den Zusatz von Pferdeserum und Fibroblastenüberständen aus gereinigten Peritonealmakrophagen der Ratte reine Mastzellen in vitro zu züchten.

Aufgrund dieser Erkenntnisse könnte man die Mastzellen wie etwa Lungenmakrophagen, Kupffer'sche Sternzellen oder Langerhan'sche Riesenzellen als eine Sonderform des Makrophagen ansehen.

Mastzellen sind post-mitotische Zellen, d.h. sie vermehren sich nach ihrer vollen Ausreifung praktisch nicht mehr (KIERMAN, 84). Die lokale Vermehrung von Mastzellen bei allergischen Reaktionen, Urticaria pigmentosa, bei parasitärem Befall könnte eher durch die Einwirkung von Fibroblasten-Faktoren, deren Art und Wirkungsweise man noch nicht kennt, auf die in das Gewebe eingewanderten oder bereits im Gewebe vorhandenen Makrophagen aufgefaßt werden (CZARNETZKI und KRÜGER, 40).

Es gibt verschiedene Populationen von Mastzellen im menschlichen Intestinum. Sie unterscheiden sich sowohl histochemisch als auch in ihrem Sekretionsprofil (ASKENASE, 2; STROBEL, 162). Ob diese unterschiedlichen Populationen die verschiedenen Manifestationen einer allergischen Reaktion bei Menschen erklären könnten, bleibt noch unklar.

Sowohl die Mastzellen als auch die Basophilen spielen bei der allergischen Reaktion eine bedeutende Rolle.

Die Typ I-Reaktion umfaßt dennoch nicht nur diese Zellen, sondern - auch wenn in untergeordnetem Maße - andere Zellen wie eosinophile und neutrophile Leukozyten, Thrombozyten und Makrophagen als weitere primäre oder sekundäre Targetzellen der Antigen-Antikörper-Reaktion (KÖNIG et al., 88).

Es ist bekannt, daß eosinophile Granulozyten das Enzym Arylsulfatase B besitzen, das die Sulfat-Bindung der SRS-A (Leukotriene C_4, D_4, E_4) spaltet und damit diese SRS-A inaktiviert (MOTA, 123; PRUZANSKY, 139). Die Anwesenheit dieser Eosinophilen bei einer allergischen Reaktion könnte zu einem negativen Feedback-Mechanismus beitragen.

Ein entscheidender Faktor bezüglich der Fähigkeit der Mastzellen bzw. der basophilen Granulozyten, auf bestimmte Allergene spezifisch mit einer Mediatorfreisetzung zu antworten, ist die Bindung der IgE -Antikörper an ihren Rezeptoren. Ig E bindet sich mit hoher Affinität an Mastzellen und basophilen Granulozyten (HEMSTEDT et al., 60; KÖNIG et al., 91). Die Anzahl zellgebundener Ig E-Moleküle an basophilen Granulozyten wurde bereits bestimmt. ISHIZAKA et al.(74) konnten ca. 40.000 Ig E-Moleküle pro basophilen Leukozyten berechnen. Diese Zahl war wahrscheinlich zu niedrig. Bei direkter Zählung mittels Elektronmikroskops konnten SULLIVAN et al. (163) ca. 400.000 Ig E-Moleküle pro basophilen Leukozyten feststellen, die mit Ferritin markiert waren. Ferner haben CONROY et al.(37) durch Elution der Ig E-Moleküle aus dem basophilen Zellmembran bei pH 3,7 berechnet, daß ca. 500.000 Moleküle pro Zelle vorhanden waren. In dieser Studie wurde die Korrelation zwischen der Anzahl der IgE-Moleküle am Membran und der Serumkonzentration von Ig E ebenfalls untersucht. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß mit höherer Serumkonzentration sich mehr Ig E-Moleküle an die Zielzellen binden. Die Unterschiede hinsichtlich der Rezeptorbeladung haben allerdings keinen Einfluß auf die Sekretionsleistung der Zelle.

3.3. Histaminfreisetzung

Die klinisch beobachtete Symptomatik während einer akuten allergischen Reaktion ist durch die Freisetzung, meist vasoaktiver Mediatoren bedingt. Unter den Mediatoren der allergischen Reaktion ist Histamin die am besten untersuchte Substanz. Die Histaminfreisetzung ist nicht zytotoxisch, d.h. keine Aufnahme von Trypanblau in die Zelle und keine Lactatdehydrogenase-Freisetzung aus der Zelle (LICHTENSTEIN, 99). Ferner verläuft sie Kalzium- und Energieabhängig und entspricht einer Sekretion (FORMAN, 49; LICHTENSTEIN, 99). Nach der heutigen Vorstellung unterteilt man die Histaminfreisetzung in IgE-induzierte oder immunologische und nicht-immunologische Freisetzung ohne Beteiligung der IgE-Moleküle (RING, 146). Im Zusammenhang mit der Thematik der vorliegenden Arbeit interessieren hier besonders die Mechanismen, die zur Freisetzung des Histamins führen.

3.3.1. IgE-vermittelte Reaktion

Die IgE-induzierte Histaminfreisetzung kann nicht nur durch Antigen ausgelöst werden, sondern auch durch polymere IgE-Aggregate, durch Concanavalin A, sowie durch Antikörper gegen das IgE-Molekül, den IgE-Rezeptor oder die idiotypische Struktur des zellgebundenen IgE-Moleküls (RING, 146; HIRATA et al., 66).

Nach der Antigenbindung an den F_{ab} -Anteilen zweier benachbarten IgE-Moleküle mit Brückenbildung, kommt es zu einem Zusammenfließen der vernetzten IgE-Moleküle an der Oberfläche der Zellen. Dies soll ein Membransignal für weitere membranbiochemische Vorgänge einleiten (ISHIZAKA, 72; KAGEY-SOBOTKA et al., 76). Die durch die IgE-Brückenbildung entstandene IgE-Rezeptor-Aggregation führt zu einer Aktivierung proteolytischer Enzyme. Eine mögliche Existenz von proteolytischen Enzymen bei der Einleitung der Histaminfreisetzung wurde zunächst von AUSTEN und BROCKLEHURST (10) berichtet, gefolgt

von weiteren Publikationen von BECKER und AUSTEN (18). Dabei wird die Serinesterase als das mögliche Enzym angenommen. ISHIZAKA et al.(73) konnten mit Protease-Inhibitoren, wie Diisopropylfluorophosphat - ein potenter Serinesterase-Inhibitor-, Trypsin-, und Chymotrypsin-Substraten die Phospholipid-Methylierung, den Kalzium-Einstrom, den c-AMP-Anstieg und die Zellsekretion inhibieren. Aufgrund dieser Untersuchung könnte ein membranassoziiertes proteolytisches Enzym die Phospholipid-Methyltransferase und die Adenylzyklase-Enzymsysteme aktivieren.

AXELROD und HIRATA (11) zeigten an Mastzellen und an basophilen Ratten-Leukämiezellen, daß es im Rahmen der allergischen Reaktion zu einer Aktivierung membranständiger Phospholipid-Methyltransferase-Enzyme kommt, was zu einem erhöhten Umsatz der Phospholipide führt (MARONE et al., 108). Durch die Einwirkung beider Enzyme, Phospholipid-Methyltransferase I und II, entsteht aus dem membranständigen Phosphatidylethanolamin die Phosphatidylcholin und Lysophosphatidylcholin. Dabei dient S-Adenosyl-Methionin als Methylgruppen-Lieferant. Lysophosphatidylcholin soll die Verschmelzung der zellständigen Granulen mit der Plasmamembran bewirken und darüber hinaus den Kalziumeinstrom in die Zelle regulieren (KÖNIG et al., 87).

SULLIVAN et al. (165) und LEWIS et al.(98) haben berichtet, daß die Aktivierung der Mastzellen durch Anti-IgE oder Concanavalin A zu einem biphasischen Anstieg des intrazellulären c-AMP geführt hat. Ein initialer Anstieg wurde 15 Sekunden nach Aktivierung beobachtet. Nach einem starken Abfall stieg c-AMP wieder nach 2 bis 3 Minuten. Diesen zweiten Anstieg konnten LEWIS et al.(98) durch Indomethacin verhindern, ohne den initialen Anstieg und Histaminfreisetzung zu beeinträchtigen. Daraus könnte man schließen, daß der zweite Anstieg eine Folge der Einwirkung von Prostaglandin D₂ ist. ISHIZAKA et al. (73) hat ebenfalls einen Anstieg des c-AMP beobachtet, allerdings einen monophasischen.

Ferner konnten sie zeigen, daß eine Erhöhung des c-AMP durch eine Präinkubation mit Theophyllin vor der Antigenzugabe die Phospholipid-Methylierung inhibierte. Die Kalziumaufnahme in die Zelle und damit auch die Histaminfreisetzung wurden dabei ebenfalls gehemmt. Die Bedeutung des initialen Anstieg des c-AMP ist noch unklar. HOLGATE et al.(70) spekulierten, daß dieser Anstieg für die Histaminfreisetzung von Bedeutung ist. Auf der anderen Seite könnte man diesen c-AMP -Anstieg als eine Schutzvorrichtung vor weiterer Triggerung auffassen. Es ist eine belegte Tatsache, daß die Mediator-Freisetzung u.a. der Regulation durch die Relation zwischen c-AMP und c-GMP (zyklisches Guanosin-3-5-Monophosphat) unterliegt (HOLGATE et al., 68; KALINER, 78; RING et al., 147). Die Umwandlung des ATP in c-AMP wird durch den Adenylzyklase-Komplex katalysiert, welcher aus einem Rezeptor-Membranprotein auf der Außenseite, dem verbundenen regulatorischen Protein und der katalytischen Untereinheit besteht (WINSLOW und AUSTEN, 186). Die Aktivierung der katalytischen Untereinheit, welche schließlich das zytoplasmatische ATP in c-AMP umwandelt, erfolgt über einen Austausch von GTP und GDP (Abb.5). Dabei wird das GTP an das regulatorische Protein gebunden (RODBELL et al., 148).

Der Phospholipid-Methylierung und dem Kalziumeinstrom folgend kommt es bei der Zelltriggerung auch zu einer Aktivierung membranständiger Phospholipase A₂ (SIRAGANIAN et al., 156). Diese Phospholipase A₂ setzt Arachidonsäure aus Phospholipiden- am meisten Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin - frei (CHAN et al., 28; KÖNIG et al., 90). Die Freisetzung der Arachidonsäure erfordert das Vorhandensein von Kalzium (MC GIVNEY et al., 116). MARONE et al.(109, 110) konnten zeigen, daß Mepacrin und p-Bromophenazylbromid - Inhibitoren der PhospholipaseA₂ - die Histaminfreisetzung aus Basophilen inhibieren. Diese Daten unterstützen die Ansicht, daß Arachidonsäurestoffwechselprodukte, die für die Sekretion aus Basophilen eine Bedeutung haben, durch die Phospholipase A₂ erzeugt werden. Die Aktivierung der Phospholipase

A₂ wird durch ein Protein, Lipomodulin, moduliert, dessen Synthese durch Kortikosteroide induziert wird (BLACKWELL et al., 21; HIRATA et al., 67). Die freigesetzte Arachidonsäure kann durch Zykllooxygenase zu den Prostaglandinen, insbesondere PGD₂ und durch eine Lipoxygenase zu mono- wie dihydroxylierten Eicosatetraensäuren (HETE's und Leukotriene) umgewandelt werden (LEWIS und AUSTEN, 97; MURPHY et al., 125; ÖRNING et al., 131). Die dihydroxylierten Eicosatetraensäuren (Leukotriene C₄, D₄, E₄) sind die Verbindungen, die "Slow Reacting Substance of Anaphylaxis" darstellen (DAHLIN et al., 41). MARONE et al. (107, 109) beobachteten, daß Indomethacin, Aspirin und Meclofenaminsäure - spezifische Hemmer der Zykllooxygenase - keine Wirkung auf die Histaminfreisetzung hatten. Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, daß Zykllooxygenaseprodukte der Arachidonsäure für die Histaminfreisetzung aus menschlichen Basophilen keine Rolle spielen. Dagegen sind die Lipoxygenaseprodukte der Arachidonsäure aktiv an der Histaminfreisetzung beteiligt, unabhängig von der Art des Stimulus (MARONE et al., 107). Stoffe, die in den Lipoxygenase-Stoffwechsel eingreifen, beeinflussen ebenfalls die Histaminfreisetzung. So hemmt die Substanz 5-8-11-14-Eicosatetraynoic acid (ETYA) - ein Inhibitor sowohl von Zykllo- als auch Lipoxygenase - in einer dosisabhängigen Weise die Anti-IgE- ebenso wie die Ionophore-induzierte Histaminfreisetzung (KÖNIG et al., 89). Ferner haben PETERS et al. (137) gezeigt, daß die 5-Hydroperoxieicosatetraensäure (5-HPETE) eine dosisabhängige Erhöhung der Histaminfreisetzung verursachte. Das reduzierte Produkt der 5-HPETE, die 5-Hydroxieicosatetraensäure (5-HETE) hat weniger potente Wirkung bezüglich der Histaminfreisetzungserhöhung. Die Leukotriene C₄ und D₄ haben kaum einen Effekt auf die Antigen-induzierte Histaminfreisetzung in vitro (PETERS et al., 136). (siehe Abb.1)

Die letzte Phase der Histaminfreisetzung stellt die Sekretion des Histamin aus den Granulen dar. Der genaue Mechanismus ist noch unbekannt. Man weißt, daß dabei Kalziumionen eine entscheidende Rolle spielen (BERRIDGE, 20; RASMUSSEN, 140).

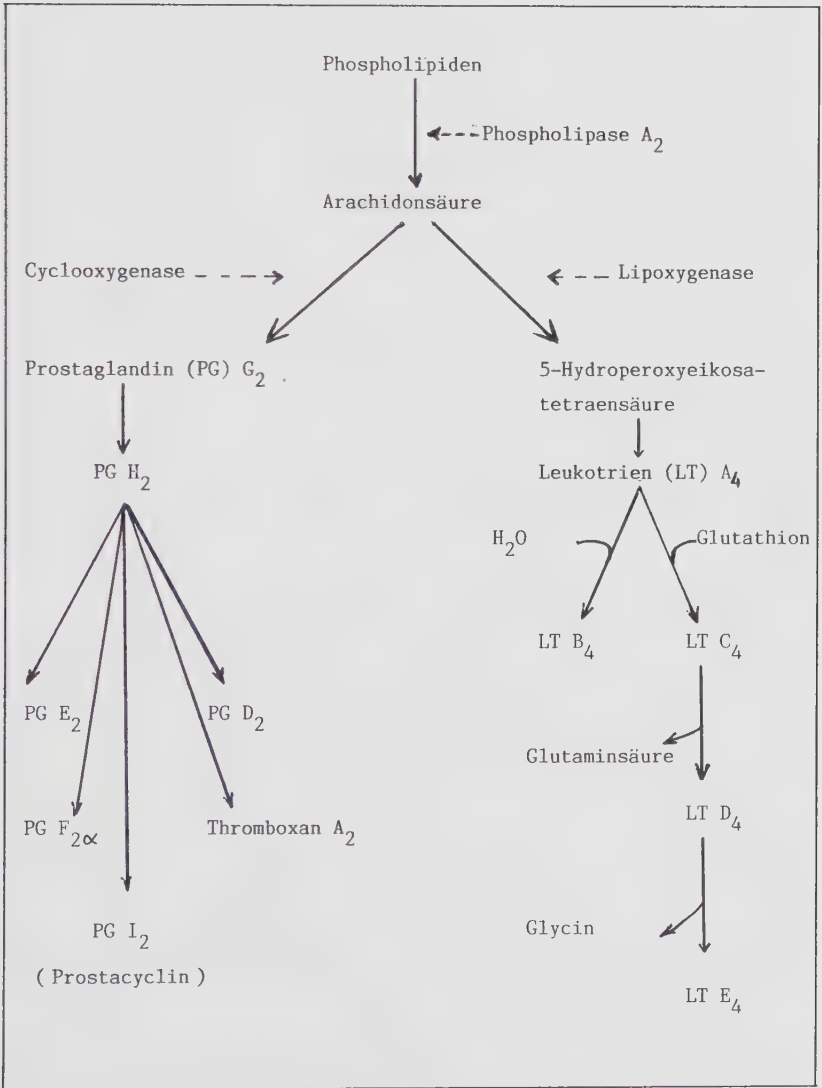


Abb.1 : Schema der Prostaglandine- und Leukotrienesynthese.

Darüber hinaus könnte die Wirkung des Kalziums über eine Bindung an spezifisches Modulationsprotein, Calmodulin, vermittelt werden (PEARCE, 135). Ferner könnte die gesteigerte c-AMP-Konzentration die c-AMP abhängige Proteinkinase aktivieren (WINSLOW und AUSTEN, 186; HOLGATE et al., 68), die die Mikrotubuli-Aggregation, welche durch Colchicin inhibiert und durch schweres Wasser D₂O gefördert wird (LICHTENSTEIN, 99) und die Kontraktion der Mikrofilamente fördert. Diese kontraktile Elemente bewirken, daß die Granulen zur Zellmembran wandern, damit verschmelzen und ihren Inhalt entleeren.

Zusammenfassung

Die geschilderten Zusammenhänge bei der Histaminfreisetzung sollen noch einmal zusammengefasst werden:

Die Reaktion wird eingeleitet mit der Bindung des Antigens an zellgebundenes IgE. Die IgE-Rezeptor-Aggregation führt über Protease-Enzym zu einer Aktivierung der Methyltransferase-Enzyme. Unter der Einwirkung dieser Enzyme kommt es zu einer Phospholipid-Methylierung, wobei Phosphatidylcholin entsteht. Dies führt wiederum zu einem Kalziueinstrom, welcher die Aktivierung der Phospholipase A₂ einleitet. Dabei wird Arachidonsäure aus Phosphatidylcholin freigesetzt und Lysophosphatidylcholin gebildet. Die letztere könnte als Fusionsmittel die Membranfusion begünstigen. Die freigesetzte Arachidonsäure kann entweder durch Lipoxygenase oder Zyklooxygenase zu Leukotrienen (SRS-A) bzw. Prostaglandinen (vor allem PG D₂) umgewandelt werden. Die Überbrückung des IgE-Rezeptors aktiviert ebenfalls den Adenylatzyklase-Komplex, wobei c-AMP ansteigt. Zusammen mit dem Kalziueinstrom reguliert c-AMP die nächsten Stufen der Histaminfreisetzung. Dabei könnte es zu einer Phosphorylierung der c-AMP-abhängigen Proteinkinase kommen, welche die mikrotubuläre Aggregation und Mikrofilamente-Kontraktion fördert und die Granulen entleeren sich (siehe Abb. 2).

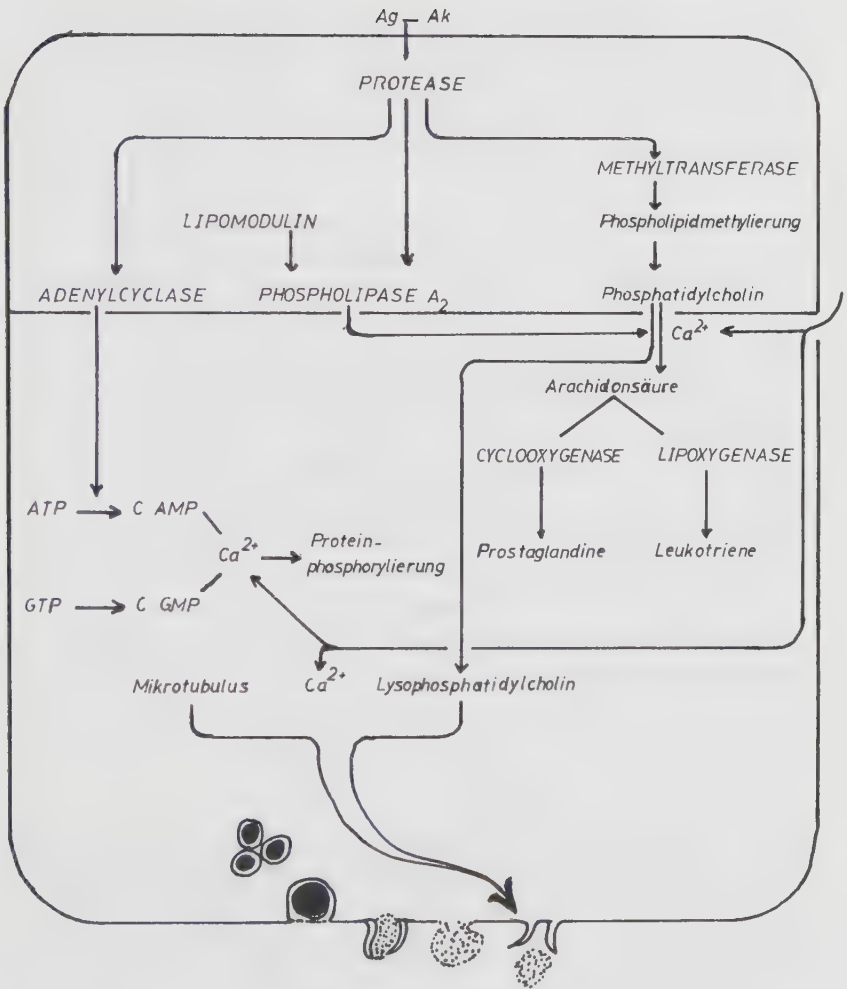


Abb.2 : Schema der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten.

3.3.2. IgE-unabhängige Reaktion

Neben der IgE-induzierten Histaminfreisetzung gibt es eine Reihe anderer Mechanismen, die zum Teil keineswegs aufgeklärt sind (DE WECK, 181). Hierzu gehören Komplement, Kalzium-Ionophore, basische Peptide, Opiat-Alkaloide, andere direkte Histaminliberatoren sowie bestimmte Enzyme (siehe Tab.2).

Die am besten untersuchte Reaktion aus dieser Gruppe ist die Kalzium-Ionophore-induzierte Histaminfreisetzung. Die Reaktion kann sowohl bei Gesunden als auch bei Atopikern ausgelöst werden. Sie hat mit der IgE-vermittelte Reaktion einige Gemeinsamkeiten, z.B. die Kalzium-Abhängigkeit und die ähnlichen Mechanismen in der zweiten Phase der Histaminfreisetzung. In dieser Reaktion entfallen einige initiale Schritte, welche für die IgE-vermittelte Reaktion von großer Bedeutung sind. Die Reaktion folgt dem folgenden Schema:

Kalzium-Einfluß ---- Arachidonsäure-Freisetzung ---- Histamin-Ausschüttung. Ferner läuft sie deutlich langsamer als die IgE- bzw. Komplement-induzierte Reaktion, und wird nicht durch c-AMP bzw. c-AMP steigernde Medikamente inhibiert (LICHTENSTEIN, 99).

3.3.3. Antagonisten der Histaminfreisetzung

Seit der Entdeckung von Dinatriumchromoglykat (DNCG) als Hemmer der Freisetzung von Mediatoren der allergischen Reaktion vom Soforttyp (COX, 38) hat sich ein großes Interesse auf Pharmaka mit derartigen Wirkungen konzentriert.

Ein interessanter therapeutischer Ansatz wäre die Blockierung des IgE-Rezeptors mit Proteinen ohne Antikörperfunktion. Dieses kann mit dem Fc-Anteil des IgE ohne weiteres erreicht werden. Interesse erweckte weiterhin die Behauptung, daß HEPP (human IgE pentapeptid) wie es am Fc-Anteil des IgE gefunden wurde, ebenfalls IgE-Bindungen verhindern könnte (HAMBURGER, 56).

IgE (oder zytophiles IgG)
(bivalentes Antigen, dimeres IgE, Anti-IgE,
Concanavalin A, Anti-IgE-Rezeptor, Anti-Idiotyp)

Komplement (C5a, C3a)

Kalzium-Ionophore

Basische Peptide
(48/80, kationische Peptide, Synacthen, Polimyxin,
MCD Peptid)

Opiat-Alkaloide
(z.B. Codein, Morphin u.a.)

Andere direkte Histaminliberatoren
(z.B. Relaxantien, Röntgenkontrastmittel, Gelatine,
i.v. -Anästhetika)

Enzyme
(Chymotrypsin, Phospholipase)

Tab.2: Mechanismen der Histaminfreisetzung nach RING (146).

Ferner können die β -adrenerge Rezeptoren durch die sympathomimetische Amine, wie Salbutamol und Katecholamine aktiviert werden, welche zu einer c-AMP-Erhöhung führen (AKAM, 3; HOLGATE et al., 69; SCHMUTZLER und POBLETE-FREUND, 174).

Die Glukokortikosteroide können ebenfalls über die Hemmung der Phospholipase A_2 den Arachidonsäure-Stoffwechsel, damit die Histaminfreisetzung hemmen (ANDERSSON et al., 4; HOLGATE et al., 69). SCHILLING und SLAPKE (173) konnten die durch Lysin-Azetylsalicylsäure induzierte Kontraktion der Meerschweinchen trachea und der Bronchien am Menschen durch Gabe von p-Aminomethylbenzoesäure reduzieren. Hier könnte wiederum eine Phospholipase A_2 -Hemmung als die Ursache angenommen werden.

Weiterhin konnten HOLGATE et al. (69) und TANIZAKE et al. (176)

eine konzentrationsabhängige Hemmung der Histaminfreisetzung durch Nifedipin, einen Kalziumantagonisten, zeigen.

Ketotifen, Benzocykloheptathipen, schützt die Granuladegranulation und hat eine H_1 -Blocker-Eigenschaft (MARTIN und ROEMER, 111). Die Wirkung dieser Substanz könnte in einer Hemmung der Phospholipid-Methylierung liegen (PACHECO et al., 133).

Schließlich können Xanthinderivate, wie Theophyllin (Phosphodiesterase-Hemmer) über eine Erhöhung des c-AMP die Histaminfreisetzung inhibieren (LICHTENSTEIN und MARGOLIS, 100). Es wurde diskutiert, ob die pharmakologische Hemmung der Phosphodiesterase bei therapeutischen Theophyllinkonzentration erreichbar sei und zur Hemmung der Mastzellendegranulation beitragen könne. Aufgrund dieser Zweifel wurde angenommen, daß die Theophyllinwirkung über eine Hemmung des Adenosins läuft, das im manchen Systemen eine c-AMP-Anhäufung verhindert, z.B. in Thrombozyten (OSSWALD, 130). Diese Diskrepanz führt zu der Annahme von zwei Adenosinrezeptoren, einem aktivierenden und einem hemmenden, wobei die zur Hemmung erforderliche Theophyllinkonzentration niedriger als die zur Aktivierung (LONDOS et al., 103) ist.

3.4. Mediatoren der Allergie und Entzündung

Neben Histamin werden bei allergischen bzw. entzündlichen Prozessen noch zahlreiche biologische Effektormoleküle freigesetzt, die spezifisch an Organen und Zielzellen reagieren und zu einer Aktivierung der biochemischen Mechanismen an dem Wirkungsort führen. Diese Mediatoren liegen in Mastzellen und Basophilen entweder präformiert vor oder können dort erst nach der Aktivierung der Zelle synthetisiert werden (KÖNIG et al., 87). Im folgenden sollen die wichtigsten Mediatoren bei Asthma bronchiale genannt werden :

Präformierte Mediatoren

- Histamin
- NCF (neutrophil chemotactic factor) (ATKINS et al., 9).
- ECF-A (eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis), wahrscheinlich identisch oder nahe verwandt mit Leukotrien B_4 und daneben 12-HETE und 5-HPETE (CZARNETZKI, 39; KÖNIG et al., 86)
- Bradykinin (BRENNER, 24; COLLIER et al., 33)

Neugenerierte Mediatoren

- PAF (platelet activating factor), jetzt chemisch identifiziert als AGEPC (Azetylglizerylätherphosphorylcholin) (BENEVISTE, 19; HANAHAN et al., 57)
- Produkte des Arachidonsäurestoffwechsels
Prostaglandine (besonders PG D_2) und Thromboxan A_2 (DAWSON et al., 42; HAMBERG et al., 55),
Leukotriene C_4 , D_4 , und E_4 (MURPHY et al., 125; ÖRNING et al., 132).

3.4.1. Histamin

3.4.1.1. Histamin und Anaphylaxie - historischer Überblick

Bei ihrem Experiment, das eigentlich der Feststellung der Giftfestigkeit, -empfindlichkeit und Immunisierungsversuchen gegenüber bestimmten Seeanemonenextrakten bei Hunden dienen sollte, haben RICHET und PORTIER (1902) das Phänomen Anaphylaxie beobachtet. Dabei stellten sie fest, daß der mit Seeanemonenextrakt vorbehandelte Versuchshund "NEPTUN" wider Erwarten vor weiteren Injektion nicht geschützt war (SCHADEWALD, 170).

Nach diesem Ereignis sind verschiedene Theorien entwickelt worden, um dieses Phänomen zu erklären. Die FRIEDBERG'sche Anaphylatoxin-Theorie (1909) - eine humorale Auffassung - stand z.B. der zellulären Auffassung gegenüber.

Die erstere sorgte für heftige Diskussionen in der medizinischen Welt bis schließlich 1910 die Histamin-Theorie von DALE ihre breite Anerkennung gewonnen hat (SCHADEWALD, 170).

Drei Jahre vor der Entdeckung ihrer biologischen Aktivität durch DALE und BERGER (1910) hatten WINDAUS und VOGT (1907) erstmalig die Substanz β -Imidazolyläthylamin synthetisiert. ACKERMANN (1910) hat unabhängig von oben genannten Ereignissen durch eine bestimmte Behandlung von Histidin mit Fäulnisbakterien die gleiche Substanz gewinnen können und damit die organische Entstehungsmöglichkeit erstmalig nachgewiesen. Ferner haben DALE und BERGER (1911) aus intestinaler Mucosenschleimhaut eine Base isoliert, die sich in ihrer pharmakologischen Wirkung von der synthetisierten β -Imidazolyläthylamin nicht unterscheidet (JONES, 76).

Bis 1912 wurde diese chemische Substanz entweder als β -Imidazoläthylamin, Ergamin oder als Histidin-Base bezeichnet. Erst FÜHNER (1912) hat als erster die Bezeichnung "HISTAMIN" - abgeleitet von Histidin- in die medizinische Terminologie eingeführt (ROSSI, 150; SCHADEWALD, 170).

3.4.1.2. Histaminsynthese

Die Bildung des Histamins, 4-(2-aminoäthyl)imidazol, mit einem Molekulargewicht von 111 erfolgt durch Decarboxylierung des L-(+)-Histidins. Diese Decarboxylierung kann mindestens über 2 Enzyme stattfinden. Das eine Enzym ist die unspezifische aromatische L-Aminosäure-Decarboxylase, welche eine niedrige Affinität zu L-(+)-Histidin besitzt. L-Histidin-Decarboxylase ist das Enzym, welches L-Histidin spezifisch aufspaltet. Beide Enzyme benötigen Pyridoxal-5'-Phosphat als Kofaktor. Sie werden durch eine bestimmte Verbindung wie Semicarbazid inhibiert, die mit dem Kofaktor einen Komplex bildet (ROSSI, 150).

3.4.1.3. Histaminverteilung

Das Histamin ist vor allem in stark basophilen, metachromatischen Granulen der Gewebsmastzellen und der basophilen Granulozyten gespeichert (RILEY, 145). In den Basophilen des Menschen ist der Histamingehalt etwa zwanzigmal niedriger als in den Gewebsmastzellen (LEVY, 96). Auch in den Thrombozyten finden sich geringe Histaminmengen ($1-12 \text{ ng}/10^8$ Plättchen) im Vergleich zu $10-20 \text{ } \mu\text{g}$ pro 10^6 Mastzellen (GIERTZ, 49).

In den Mastzellen und Basophilen geht Histamin über eine primäre Aminogruppe seiner Seitenkette mit dem schwefelsauren Mukopolysaccharid Heparin und einem Kofaktor (basisches Protein) eine ionische Bindung ein (GREEN, 53; ÜVNAS, 179) (siehe Abb.3). Aus dieser Bindung wird Histamin bei der Histaminfreisetzung über einen Ionenaustauschprozeß gelöst (PARWARESH, 134; KELLER, 83).

Bereits 1956 hat FELDBERG (46) feststellen können, daß das Histamin in fast allen menschlichen Geweben mit Ausnahme von Knorpel und Knochen vorkommt. Außerdem findet sich Histamin im Blut, Plasma, Magensaft, Galle, Urin, Sputum und Eiter. Diese Verteilung ist allerdings speziesabhängig und bei gleichen Spezies von Organ zu Organ sehr verschieden. Beim Menschen hat die Lunge die höchste Gewebskonzentration an Histamin, gefolgt von Magenfundus, Bauchhaut, Leber, Milz und Niere (LORENZ et al., 105). Ferner kommt Histamin wie Noradrenalin und 5-Hydroxytryptamin ebenfalls in bestimmten Regionen des Stammhirnes vor, vor allem in Thalamus und Hypothalamus sowie in relativ geringer Konzentration im Kleinhirn und in der Großhirnrinde (WHITE, 185).

3.4.1.4. Histaminabbau

Der Histaminabbau erfolgt über 3 verschiedene Enzyme, nämlich:

- Histaminmethyltransferase (Methylierung), die in menschlichen Geweben weit verbreitert ist,

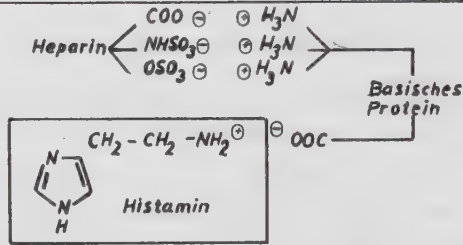


Abb.3 : Histaminbindung an Heparin in Mastzellen- bzw. Basophilengranula.

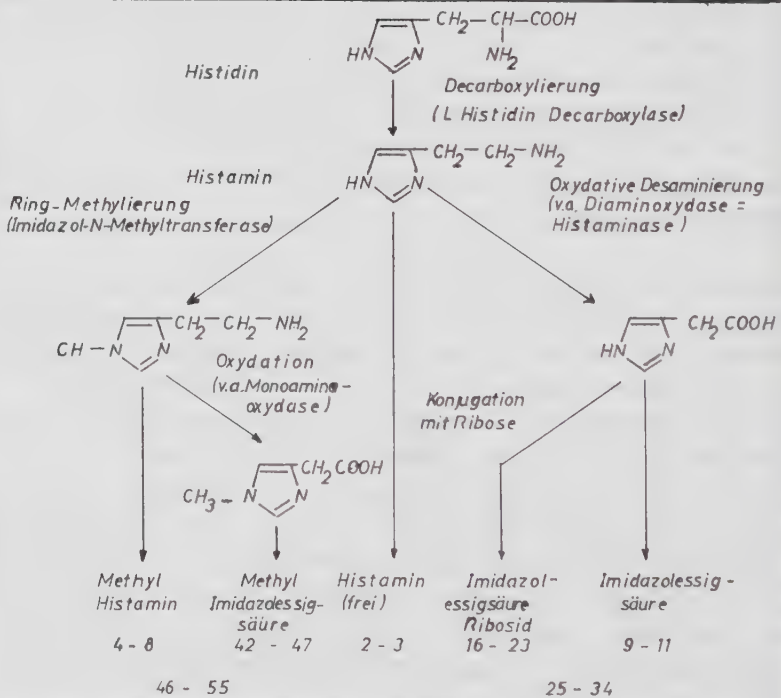


Abb.4 : Synthese und Abbau von Histamin, modifiziert nach GIERTZ (49). Zahlen bedeuten % Histaminabbauprodukte im Urin.

- Diaminoxydase (oxydative Desaminierung) und
- Monoaminooxydase (SCHAYER, 172) (siehe Abb. 4).

LILJA und LINDELL (102) haben bei ihren Untersuchungen an Katzen, wobei eine Lungen-Herz-Leber-Präparation verwendet wurde, die schnelle Entfernung des markierten ^{14}C -Histamins aus dem Blut innerhalb von 2 Minuten post injectionem zeigen können. Dabei traten als Metaboliten Methylhistamin als Produkt der Methylierung, und Methylimidazolessigsäure auf. Letztere ist das Produkt der weiteren Desaminierung des Methylhistamins durch Monoaminooxydase und zugleich ein Hauptprodukt im Urin beim Menschen. Nach der Ausschaltung der Leber bei dieser Präparation wurden sehr geringe Menge an Methylhistamin und insbesondere Methylimidazolessigsäure gemessen. Diese Erniedrigung der Metabolitenkonzentration wurde sowohl auf die geringe Fähigkeit des Herz- und Lungengewebe, das Methylhistamin zu oxydieren als auch auf die fehlende Synthese von S-Adenosilmethionin in der Leber zurückgeführt. S-Adenosilmethionin ist ein Kofaktor der Methylierungsenzyme. Bei der oxydativen Desaminierung traten Imidazolessigsäure und - nach einer Konjugation mit Ribose - Imidazolessigsäure ribosid auf.

Im Hinblick auf die letale Menge an Histamin in Geweben scheint eine rapide Degradation von Histamin für den Organismus sehr notwendig. Außerdem schaffen diese Mechanismen dem Körper eine gute Anpassungsfähigkeit (BEAVEN, 17).

3.4.1.5. Histaminwirkung

Ähnlich wie bei Noradrenalin und Adrenalin lassen sich die Wirkungen des Histamins verschiedenen Rezeptoren, den H_1 - und H_2 -Rezeptoren, zuordnen. Diese verschiedenen Arten von Rezeptoren haben ASH und SCHILD (7) 1966 aufgrund einer Diskrepanz in der Wirkung eines bestimmten Histaminantagonisten, Mepyramin, postuliert. Mepyramin hemmte zwar den Histamineffekt auf das Ileum des Meerschweinchens und den Bronchial-

baum, jedoch nicht die histamininduzierte Magensäureproduktion und die Stilllegung des Rattenuterus. Sie bezeichneten jene Rezeptoren, welche durch Mepyramin blockiert werden konnten als H_1 -Rezeptoren und die Mepyraminresistenten als H_2 -Rezeptoren. Das bei einer allergischen Reaktion freigesetzte Histamin kann seine Wirkung entweder direkt über H_1 - und H_2 -Rezeptoren oder auf dem Umweg über einen cholinergischen Vagus-Reflex entfalten (KUNKEL et al., 93; MILLS und WIDDICOMBE, 119). Die Atemwege sind von der Trachea bis zu den feinsten peripheren Bronchien mit rasch adaptierenden subepithelialen Rezeptoren versehen. Die über den afferenten Schenkel zu den zentralen Vagus-kernen geleiteten Reize werden über die efferenten Fasern zu postganglionären Fasern zurückgesendet, um dort die Bildung von Acetylcholin zu veranlassen, wodurch die Bronchokonstriktion verursacht wird (MILLS und WIDDICOMBE, 119).

Die direkte Wirkung des Histamins über H_1 -Rezeptoren verursacht eine Verschiebung der c-AMP/c-GMP-Ratio zugunsten des c-GMP, welche die Bronchokonstriktion begünstigt. Die Bindung des Kalziums an das Calmodulin, ein Kalzium-bindendes Protein mit ähnlicher Struktur und Funktion wie Troponin C, führt zu einem Calcium-Calmodulin-Komplex. Dieser Komplex aktiviert das inaktive Enzym Myosinkinase. Diese Aktivierung bewirkt eine Phosphorylierung des Myosins, was zu einer Kontraktion des glatten Muskels führt (ADELSTEIN und EISENBERG, 2). Das Enzym Myosinkinase kann nicht direkt durch c-AMP aktiviert werden. C-AMP hat allerdings die Fähigkeit, eine Reihe von Proteinkinase-Enzyme zu aktivieren. Diese c-AMP-aktivierte Proteinkinase kann dann Myosinkinase - nicht das Muskelprotein Myosin selbst - phosphorylieren. Die über diesen Weg phosphorylierte Myosinkinase hat schwache Affinität zum Kalzium-Calmodulin-Komplex, so daß sie gegenüber einer Aktivierung weniger empfindlich reagiert. Ein Anstieg der intrazellulären c-AMP-Konzentration dämpft dann die Reaktion auf eine bestimmte Erhöhung des sarcoplasmatischen Kalziums. Diese molekulare Mechanismen können z.B.

die relaxierende Wirkung der β -adrenergischen Stimulation auf die glatte Muskulatur der Bronchien erklären (ADELSTEIN, 1; BARANY und BARANY, 12) (siehe Abb. 5).

Ferner verursacht Histamin eine unspezifische bronchiale Hyperreagibilität, so daß bereits sehr geringe anderweitige Reize eine schwere Bronchokonstriktion auslösen können (ISLAM und ULMER, 75). Auch Prostaglandin $F2\alpha$ wie auch Serotonin haben diesbezüglich eine "sensibilisierende" Wirkung (ZIMMERMAN und ULMER, 189). Die Arbeitsgruppe um ULMER hat weiterhin sehr große Menge Histamin im Bronchiallumen und im Blut bei allergischen Atemwegsobstruktion sowie im Sputum von Patienten mit chronischer Infektobstruktion gefunden, die direkt die Bronchokonstriktion auslösen (ZIMMERMAN et al., 187, 188).

Die asthmaerzeugende Wirkung von Histamin hängt ab von:

- Konzentration des Histamins in der Umgebung der Zellen , aus denen sie freigesetzt werden,
- Konzentration im Blutplasma, und
- Empfindlichkeit der Strukturen der Atemwege auf diese Stimuli (HERZOG, 62)

Es liegen nur wenige Untersuchungen über die Histaminwirkung auf andere Organe und die dabei beteiligten Rezeptoren im Vergleich zu den α - bzw. β -adrenergen Wirkungen der Katecholamine vor. Eine Übersicht der bisherigen Ergebnisse zeigt die Tabelle 3 (GIERZT, 49). Außer einer pulmonalen Bronchokonstriktion sind unter den H_1 -vermittelten Histaminwirkungen noch Vasodilatation und c-GMP-Erhöhung zu nennen.

Zu den H_2 -vermittelten Reaktionen gehören die Herabsetzung der IgE-induzierten Histaminfreisetzung aus Basophilen und Mastzellen, Steigerung der Konzentration von c-AMP, Herabsetzung der Freisetzung von lysosomalen Enzymen von neutrophilen Leukozyten, Magensäure- und Bronchialschleimsekretion sowie Inhibition der lymphozytär medierten Zytotoxizität (HERZOG, 62; KÖNIG et al., 87).

Organ	Rezeptortyp	Wirkung
HERZ		
	H ₂	Frequenzzunahme
	H ₂	Kontraktilitätszunahme
GEFÄSSE		
Koronargefäße	H ₁ , H ₂	Dilatation
Gefäße über 80 µm	H ₁	Konstriktion
Gefäße unter 80 µm	H ₁ , H ₂	Dilatation
Venolen unter 50 µm	H ₁	erhöhte Permeabilität
Leber	H ₁	Lebervenenstau
BLUT	H ₁	Hämokonzentration
LYMPHE	H ₁	Flußsteigerung
BRONCHIALMUSKULATUR		
Mensch	H ₁	Konstriktion
	H ₂	Sekretion des Bronchialschleims **
Schaf	H ₂	Erweiterung
TRACHEA		
Katze	H ₁ , H ₂	Relaxation
UTERUS		
Meerschweinchen	H ₁	Kontraktion
Ratte	H ₂	Relaxation
MAGEN	H ₂	Magensäuresekretion
DARM	H ₁	Kontraktion
NEBENNIERENMARK	H ₁	Adrenalinausschüttung
MASTZELLEN **	H ₂	Herabsetzung der IgE-induzierten Histaminfreisetzung
		idem
BASOPHILEN	H ₂	Herabsetzung der Freisetzung
NEUTROPHILEN	H ₂	von lysosomalen Enzymen **
LYMPHOZYTEN	H ₂	Inhibition der lymphozytär
		medierten Zytotoxizität##

Tab.3 : Differenzierung von Histamin-Wirkungen an H₁- und H₂-Rezeptoren nach GIERTZ (49), modifiziert.

** HERZOG (62)

KÖNIG et al. (87)

3.4.1.6. Histamin-Antagonisten

Die im letzten Abschnitt ausgeführten Umstände führten schließlich zur Entwicklung von verschiedenen Antihistaminika, den H_1 -Antihistaminika bzw. H_1 -Rezeptor-Inhibitoren und den H_2 -Antihistaminika (LAURENCE und BENNETT, 95). Die H_1 -Antihistaminika haben die in sie gesetzten Erwartungen in der Behandlung von Asthma bronchiale nur zu einem geringen Teil erfüllt (KUNKEL et al., 93; LA RENCE und BENNETT, 95). Bei Patienten mit nächtlichen Asthmaanfällen können diese H_1 -Antihistaminika vom Nutzen sein (HERXHEIMER, 61; RUDOLF, 152; WEISS und SEGAL, 182).

Die Hauptindikation der H_2 -Antihistaminika ist die Hemmung der Magensäuresekretion. Der H_2 -Rezeptor-Blocker wie Cimetidin soll ebenfalls eine antiallergische Wirksamkeit haben (NATHAN et al. 126). Es gibt Hinweise, daß eine Kombinationstherapie der allergischen Erkrankungen mit H_1 - und H_2 -Antihistaminika eine günstigere Wirkung zeigte (HUTCHCROFT et al., 71). Bei seiner experimentellen Untersuchung an Meerschweinchenlungen konnte CHAND (29) zeigen, daß H_2 -Rezeptoren auch in den Atemwegen gewisser Tierspezies vorhanden sind und im allgemeinen bei Aktivierung eine Bronchodilatation erzeugen. Es besteht also die Möglichkeit, daß H_2 -Rezeptor-Antagonisten bei Asthmatikern den Bronchospasmus ungünstig beeinflussen könnten. SCHACHTER et al. (169) kamen bei ihrer Untersuchung über dieses Problem zu dem Ergebnis, daß H_1 -Blocker Chlorpheniramin sowohl bei Asthmatikern als auch bei Gesunden die Bronchokonstriktion auf Histamin signifikant reduzierte. Bei Asthmatikern verstärkte Cimetidin allerdings den Bronchospasmus. Im Gegensatz dazu hat Cimetidin eine dem Placebo gleiche Wirkung auf den Bronchospasmus beim Gesunden. Es wurde gefolgert, daß H_2 -Rezeptoren möglicherweise nur bei Asthmatikern vorhanden wären, jedoch nicht beim Gesunden. Ferner haben BUGALHO DE ALMEIDA et al. (26) keinen günstigen Effekt von Cimetidin bezüglich der Prävention bzw. der Reduktion der Histamin-induzierten Bronchokonstriktion festgestellt.

3.4.1.7. Nachweismethoden von Histamin

Histamin läßt sich nach der klassischen Methode über den biologischen Assay bestimmen. SCHULTZ (1911) führte die Anwendung des Meerschweinchenileums ein. Diese Methode beruht auf die Fähigkeit der glatten Muskulatur auf Histamin zu kontrahieren. Eine schnelle Kontraktion und Relaxation ermöglicht eine frequentierte Zugabe von verschiedenen Testsubstanzen. Eine quantitative Relation zwischen der Histaminkonzentration und Intensität der Kontraktion sowie ein Vergleich mit der durch Standardhistaminlösung induzierte Kontraktion schaffen eine gute Voraussetzung zum Nachweis dieser wichtigen Substanz. Auf dieser Weise kann eine Minimalmenge zwischen 3 und 10 ng bestimmt werden (MC INTIRE, 118).

Unter den chemischen Methoden sind die Diazo- , Dinitrofluorobenzen- , Radioisotopen- , sowie die Fluorometrische Methode zu nennen.

- Diazo-Methode

Das Prinzip dieser Nachweismethode ist das Koppeln der diazotisierten Amine wie p-nitroanilin an Histamin zur Bildung einer Benzenimidazol-Verbindung, welche durch Extraktion mit Methylisobutylketon isoliert wird. Anschließend wird die optische Dichte dieser Ketonlösung bei 516 nm photometrisch gemessen (MC INTIRE, 118).

- Dinitrofluorobenzen (DNCB)-Methode

Ähnlich wie bei Diazo-Methode wird hier die Fähigkeit der freien Aminogruppe des Histamins zur Bindung an DNCB genutzt. Das entstandene Produkt, (2,4-Dinitrophenyl) histamin wird dann bei 355 - 360 nm photometrisch gemessen, welche mit der Histaminkonzentration korreliert (MC INTIRE, 118).

- Isotopentechnik nach SNYDER (158)

Diese Methode beruht auf dem enzymatischen Transfer der ^{14}C -Adenosylmethionin zu Histamin, wobei ^{14}C -Methylhista-

min gebildet wird. Mit dieser Methode kann eine Minimal -
menge Histamin von 0,1 - 0,5 ng genau gemessen werden.

- Fluorometrische Methode (SHORE et al., 154; SIRAGANIAN und HOOK, 157).

Die heutzutage gängigste Methode der Histaminbestimmung ist das von SHORE et al. (1959) beschriebene Verfahren. Die Methode basiert auf die Bindung des Histamins an Ortho-phthaldialdehyd (OPT) unter alkalischen Bedingungen zu Histamin-o-phthaldialdehyd. Dieses Produkt zeigt nach Aktivierung bei 350 nm eine starke Fluoreszenz bei 450 nm. Diese Fluoreszenz verhält sich proportional zur Histaminkonzentration in einem Bereich von 5-500 ng/ml. Im Vergleich zu der Bioassay-Methode hat dieses Verfahren einen 10 fachen Vorteil bezüglich ihrer Sensitivität und ist mehr spezifisch als die DNCB-Methode. Ähnlich wie bei den anderen chemischen Methoden braucht das Verfahren ebenfalls Reinigungsschritte vor der Kondensation des Histamins mit OPT, um Amoniak, Histidin, und andere Peptide, bei denen Histidin N-Terminalposition einnimmt, zu entfernen. Die Proteine werden vor der Analyse durch Zusatz von Perchlorsäure beseitigt. Die Stabilität des Histamin-OPT-Komplexes wurde durch Arbeiten von KREMZNER und WILSON (92) verbessert. SIRAGANIAN (155) hat dann die Automatisierung dieses ganzen Verfahren eingeführt, indem einfache und effiziente Extraktoren eingesetzt wurden. Diese ermöglicht eine Messung von 30 Proben pro Stunde. Trotzdem bleibt diese zeitaufwändige Methode noch den großen Kliniken und Forschungsanstalten vorbehalten.

4. PATIENTENGUT, MATERIAL UND METHODEN

4.1. Patientenkollektiv

4.1.1. Patienten mit Asthma bronchiale

Nach einer eingehenden Aufklärung über den Sinn und den Ablauf der Studie gaben 11 Patienten der Asthma-Poliklinik der Freien Universität Berlin freiwillig ihr Einverständnis. Dieses Patientenkollektiv bestand aus 5 Frauen und 6 Männern. Ihr Durchschnittsalter lag bei 39 Jahren mit einer Streuung von 18 Jahren bis 55 Jahren. Anamnestisch war eine durchschnittliche Dauer der Erkrankung von 9 Jahren (5 bis 16 Jahre) festzustellen. (siehe Tab. 4)

Geschlechtsverteilung	5 Frauen	6 Männer
Altersverteilung	18 - 55 Jahre	$\bar{x} = 39$ Jahre
Erkrankungsdauer	5 - 16 Jahre	$\bar{x} = 9$ Jahre

Tab. 4 : Übersicht über das untersuchte Patientenkollektiv mit Asthma bronchiale.

Es wurden nur Patienten mit mittelschwerem extrinsic Asthma bronchiale aufgenommen, die anamnestisch Atemnotanfälle in den Morgendstunden angaben. Die Diagnose des extrinsic Asthma bronchiale wurde bereits von den Mitarbeitern der Asthma-Poliklinik gestellt. Bei allen Patienten wurden Hauttestungen (Prick-, Intracutantest) durchgeführt, und bei 7 Patienten auch das Gesamt-IgE und/oder das spezifische IgE bestimmt. Hausstaub war bei allen Patienten positiv. Die in der Hauttestung positiven Reaktionen wurden dann auf ihre Aktualität für die bestehenden Beschwerden durch eine nasale Provokation mittels eines Rhinomanometers geprüft (Ausnahme ein 55-

jähriger Patient). Bei einer Patientin (AZB) war eine bronchiale Provokation notwendig. Die nasale Provokation ergab bei 10 der untersuchten Patienten eine deutliche Reaktion auf Hausstaub. Eine spezifische Hyposensibilisierung wurde bei 6 Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung durchgeführt (siehe Tab.6).

Folgende Ausschlußkriterien galten für die Untersuchung:

- Patienten unter 18 und über 65 Jahren
- Patienten mit einer Herzinsuffizienz
- Patienten, die auf orale Corticosteroide eingestellt waren
- Patienten mit einer vorausgegangener Infektion der oberen Luftwege unmittelbar vor der Untersuchung
- Patienten mit anderen schweren Erkrankungen
- Patienten mit rheumatischen und anderen Erkrankungen, die einer Therapie mit analgetischen und/oder antiphlogistischen Medikamenten bedürfen.

4.1.2. Kontrollgruppe

Zu diesem Zwecke konnten 4 gesunde Personen gewonnen werden, die ebenfalls freiwillig ihr Einverständnis gaben. Diese Gruppe bestand aus 2 Frauen und 2 Männern im Alter zwischen 18 und 45 Jahren. Ihr Durchschnittsalter lag bei 26,5 Jahren. Ferner war zu eruieren, daß in der Familie keine allergische Erkrankungen wie Ekzemen, Pollinosis, Urticaria oder Asthma bronchiale bestand. Vor der Studie wurden zusätzlich eine Hauttestung (Pricktest) mit üblichen Allergenen und das Gesamt-IgE -Untersuchung durchgeführt (siehe Tab.5).

Patienten-initialen	Geschlecht	Alter	Pricktest	Gesamt - IgE U/ml
AW	w	45 J.	negativ	37 U/ml
FL	m	21 J.	negativ	19 U/ml
HJ	m	18 J.	negativ	26 U/ml
MK	w	22 J.	negativ	39 U/ml

Tab. 5 : Übersicht über die untersuchte Kontrollgruppe.

Patienten- initialen	H A U S S T A U B					
	Pricktest	Prist U/ml	Rast Klasse	RMM *	BPT	Hyposensibilisierung
BB	+	Ø	Ø	+	Ø	2 Jahre, abgeschlossen
TW	+	45 U/ml	Ø	+	Ø	2 Jahre
SH	+	1354 U/ml	1	Ø	Ø	Ø
SHE	+(+)	Ø	1	+	Ø	8 Jahre, abgeschlossen
ÖM	++	Ø	Ø	+	Ø	4 Jahre, abgeschlossen
RG	+(+)	Ø	Ø	++	Ø	Ø
PP	++	Ø	Ø	+	Ø	2 Jahre
AZB	+	211 U/ml	2	-	+	2 Jahre
KJ	++	242 U/ml	1	+	Ø	Ø
DI	++	336 U/ml	2	+	Ø	1 Jahr
SE	++	800 U/ml	2	+	Ø	Ø

Tab. 6 : Übersicht über die bereits vor der Studie durchgeführten Untersuchungen sowie die jeweilige Dauer der Hyposensibilisierung bei 11 Patienten mit extrinsischer Asthma bronchiale zum Zeitpunkt der Studie.

*) Rhinomanometrische Untersuchung

4.2. Untersuchungsdesign und -ablauf

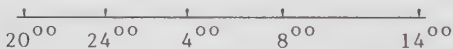
4.2.1. Untersuchungsdesign

In dieser Studie wurde die totale Histaminfreisetzung sowohl bei kranken Probanden als auch bei der gesunden Kontrollgruppe untersucht. Bei dieser Gesamthistaminfreisetzung wurde der Histamingehalt der Basophilen nach einer Behandlung mit Perchlorsäure gemessen.

Außerdem wurde bei 4 Patienten die Histaminfreisetzung mit verschiedenen Hausstaubextrakt-Verdünnungen untersucht. Mit diesem Verfahren soll die Freisetzungsbereitschaft der Basophilen zu verschiedenen Tageszeiten untersucht werden.

Um eine Beziehung zwischen der Klinik und den in vitro erzielten Ergebnissen zu sehen wurde auch der Peakflow bei allen Probanden gemessen.

Alle PF-Messungen und Histaminfreisetzungsversuche erfolgten zu folgenden Zeiten :



4.2.2. Untersuchungsablauf

Während der Studie übernachteten die Probanden eine Nacht in der Asthma-Poliklinik der Freien Universität Berlin.

Da es nicht möglich war, die Patienten zu dem gleichen Termin zu bestellen, wurde die Studie entweder vom Freitagabend 20⁰⁰ bis Samstagmittag 14⁰⁰ oder vom Samstag 14⁰⁰ bis Sonntag 8⁰⁰ Uhr durchgeführt. Mit dieser Zeiteinteilung konnte eine durchgehende Arbeit gewährleistet werden.

3 Tage vor dem Untersuchungsbeginn wurden die Patienten aufgefordert, sämtliche bronchodilatatorische Medikamente nicht einzunehmen bzw. DNCG-Aerosol nicht anzuwenden. Erlaubt waren

nur die Anwendung inhalativer Corticosteroide bei einem Patienten, der vor der Untersuchung bereits darauf eingestellt war, und von β -Sympathikomimetika in Form eines Dosieraerosols bei allen Patienten, wenn unbedingt erforderlich. Der Verbrauch an β -Sympathikomimetika während der Untersuchung wurde von Patienten vermerkt und dem Untersucher mitgeteilt.

Sowohl die gesunden als auch die kranken Probanden durften während der Studie nicht rauchen. Ebenfalls verboten war der Genuß von Kaffee und Tee. Während der Untersuchung durften die Probanden das Bett verlassen und das Licht wurde um 24⁰⁰ Uhr ausgeschaltet.

Zu verschiedenen Untersuchungszeiten wurden die Patienten zunächst nach dem Verbrauch von β -Sympathikomimetika-Aerosolen, anderen Medikamenten und evtl. Beschwerden wie Hustenattacken, Oppressionsgefühl und Atemnot gefragt. Diese wurden dann im Protokoll festgehalten. Anschließend erfolgte die PF-Messung im Sitzen mittels eines Wright-Peakflowmeter "Airmed", wobei von jeweils 3 Messungen der beste Wert genommen wurde. Zwischen den einzelnen Messungen wurde eine kurze Pause von 15 Sekunden eingehalten. Danach wurde die Blutabnahme über einer Braunüle vom Typ Abbocath T 20 durchgeführt, welche in die Cephalicalvene des Unterarmes gelegt war. Nach jeder Blutentnahme wurde ca. 0,05 ml Liquimin - gemischt mit NaCl in die Braunüle gespritzt

4.3. Die Prozedur der Histaminfreisetzung (SIRAGANIAN und HOOK, 157)

Bezugnehmend auf die Erörterungen zur Histaminfreisetzung, unter Punkt 3.3. wurden für die Versuche außer den gewaschenen Leukozyten auch Allergene und ein in vitro-System benötigt, in dem die Histaminfreisetzungsreaktion stattfinden konnte.

4.3.1. Leukozytenvorbereitung

a. 20 ml Blut wurden in ein 50 ml Polypropylen -Röhrchen (Falcon-Röhrchen No. 2074) gefüllt. Vorher wurden folgende Lösungen in Röhrchen vorgelegt :

5,0 ml 5% Macrodex (Fa.Knoll)

2,0 ml 0,1 M EDTA-Lösung und

0,6 ml 50% Glucose-Lösung (Fa. Braun Melsungen)

b. Inhalt des Röhrchens mehrmals schwenken

c. das Röhrchen zur Sedimentation für 60 bis 90 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen

d. die weißgrauliche Zwischenphase (Leukozyten) samt Plasma mit einer Pasteur -Pipette abnehmen und in ein anderes Röhrchen geben

e. diesen Überstand bei 1000 Rpm und 4°C für 8 Minuten zentrifugieren (Zentrifuge der Fa. Hettich Rotanta)

f. den Plasmaüberstand vorsichtig und zügig abgießen

g. die Leukozyten waschen mit:

1. 50 ml TCM-EDTA-Puffer bei 1000 Rpm und 4°C dann

2. 50 ml TCM-A-Puffer bei 1000 Rpm und 4°C für weitere 8 Minuten

h. die gewaschenen Zellen mit wenigstens 16 ml TCM-ACM-Puffer (für 20 Proben) resuspendieren.

4.3.2. Allergenverdünnung

Für die Studie wurde Hausstaubextrakt der Fa. Allergopharma mit einer Konzentration von 5000 PNU/ml verwendet. Es wurden für jeden Test 7 verschiedene Verdünnungen hergestellt. Dazu wurden folgende Schritte durchgeführt:

a. 0,1 ml der Stammlösung mit 2,4 ml TCM-ACM-Puffer mischen, daraus entstand eine Allergenlösung mit 200 PNU/ml

b. 1 ml dieser Lösung in Sarstedt-Röhrchen (No. 55 484, Fa. Sarstedt) füllen (Röhrchen Nr. 1)

c. Füllen weiterer 6 Röhrchen mit jeweils 900 µl TCM-ACM-Puffer

d. Ausgehend von dem Röhrchen Nr.1 jeweils 100 µl Lösung in

andere Röhrchen überpipettieren, nach jeder Überpipettierung die Lösung mittels eines Vortexierers (Fa. Retsch) gut mischen

e. so viel Allergenlösung aus jedem der 7 Röhchen entfernen, daß in jedem Röhrchen nur noch 800 µl Allergenlösung für die Inkubation mit Zellen übrigbleiben.

Diese unterschiedlich konzentrierten Allergenlösungen wurden bei der späteren Inkubation mit jeweils 800 µl Zellsuspension weiter verdünnt, so daß letzten Endes die Leukozyten mit folgenden Allergenkonzentrationen provoziert wurden:

<u>Vor der Hinzugabe</u>		<u>Nach der Hinzugabe der Zellen</u>
Röhrchen Nr.	1 200 PNU/ml	100 PNU/ml
	2 20	10
	3 2	1
	4 0,2	0,1
	5 0,02	0,01
	6 0,002	0,001
	7 0,0002	0,0001

In jedem Experiment mußten mehrere Leerwerte (blanks) als Kontrolle mitvorbereitet werden. Dazu wurden zu mindestens 2 Sarstedt-Röhrchen nur 800 µl TCM-Puffer gegeben.

Um den Gesamthistamingehalt der Zellen (completes) zu messen mußten wiederum 4 Sarstedt-Röhrchen mit jeweils 800 µl 3% Perchlorsäure bereitgestellt werden.

4.3.3. Inkubation

a. die vorbereiteten Allergenportionen, Blanks und Completes in einem Ständer, im Wasserbad von 37°C, getrennt von der Zellsuspension für 6 Minuten vorwärmen

b. in jedes Röhrchen jeweils 800 µl Zellsuspension zügig einfüllen; die Leukozyten-Konzentration in diesem Reaktionsgemisch sollte zwischen 10^6 bis 4×10^6 Zellen/ml betragen

- c. den Ständer alle 10 Minuten schütteln
- d. nach 40 Minuten die Reaktion stoppen, alle Röhrchen sofort in Eiswasserbad stellen
- e. Zentrifugieren der Röhrchen bei 1800 Rpm und 4°C für 15 Minuten
- f. den Überstand in vorher vorbereitete und beschriftete Autoanalyser-Becher (No. 127-0099-P01 Fa. Technicon) gießen
- g. Zur Lagerung bei 4°C die Becher mit Parafilm zudecken

4.3.4. Histaminmessung

Der Histamin enthaltende Überstand kann bei 4°C bis zur Analyse innerhalb 24 Stunden aufbewahrt werden oder bei - 20°C für längere Zeit (BORG und KÖNIG, 22; SIRAGANIAN und HOOK, 157).

Für die fluorometrische Messung des Histamins wurden folgende Geräte benutzt :

- Technicon Autoanalyzer II Probennehmer
- ,, Fluoronephelometer
- ,, Proportionierpumpe
- Technicon Recorder SE 210 (Schreiber)

4.3.4.1. Reaktionsablauf

Nachdem die Probe - in diesem Fall, der nach Inkubation zentrifugierte Überstand - mit 5% NaCl gemischt worden war, wurde n-Butanol hinzugefügt. Der Flüssigkeitsstrom wurde mit 5 N NaOH alkalisiert, um Histamin in Butanol zu extrahieren. In der Spule I des Auto-Analyzers fand eine schnelle Separation der wäßrigen Phase statt. Diese wäßrige Phase wurde verworfen. Die organische Phase wurde mit 0,1 N HCl und n-Heptan versetzt. Nach der Mischung in der Spule II wurden organische und wäßrige Phase durch den Extraktor II erneut getrennt. Dabei wurde die organische Phase verworfen. Bevor o-Pthaldialdehyd zugeführt wurde, wurde die wäßrige Phase mit 1 N NaOH alkalisiert. Nach einer optimalen Reaktionszeit wurde die Histamin-o-Pthaldialdehyd-Reaktion durch Zugabe von

Phosphorsäure gestoppt. Der Strom passiert dann das Fluoronephelometer.

4.3.4.2. Bedienungshinweise

a. Fluoronephelometer

- das Gerät vor den Messungen 30-40 Minuten aufwärmen lassen.
- Sample aperture auf 5 und reference aperture auf 2 einstellen

b. Proportionierpumpe

- Pumpe 5 Minuten laufen lassen, dann zunächst die wäßrige Reagenzien pumpen.
- Kurz danach die OPT-Lösung (im Eisbad mit Alufolie vor Licht schützen).
- System auf einwandfreies Fließverhalten bzw. regelmäßige Blasenmuster, saubere Trennung der organischen und wäßrigenPhase prüfen.

c. Schreiber

- 10 Minuten nachdem die OPT-Lösung ins System gepumpt wurde, erst den Schreiber einschalten, um Papier durch zu Abfang unruhige Schreibtätigkeit zu ersparen.
- Basislinie auf 10. Striche auf dem Diagrammpapier durch Manipulieren am Basislinie-Potentiometer einstellen, um Basislinie-Abweichung nach unten abzufangen.
- Standard calibration und Basislinie-Skala aufschreiben
- Standardkurve (Histamin 10 ng/ml) einstellen d.h. die Höhe der Kurve so einstellen, daß die Peaks der höheren Histaminkonzentration innerhalb des Diagrammpapiers aufgezeichnet wird.

d. Probennehmer

- Zunächst 3 Standardhistaminmessungen, danach Perchlorsäure oder NaCl in das System pumpen, damit die Basislinie wieder erreicht werden kann. Dieses Prinzip wurde nach jeder Messung einer hohen Histaminkonzentration wiederholt.
- Dann erfolgte die eigentliche Messung der Proben, ange-

fangen mit der niedrigsten Konzentration bis Completes (Gesamthistamin).

- Nach ca. 30-40 Messungen sollte wieder 3 Standardhistaminproben gemessen werden, um die Basislinie zu kontrollieren, die zugleich als Marker diene.

e. Beendigung des Meßvorgangs

- Alle Schläuche für wäßrige Lösungen mit Wasser und die für organische Lösungen mit Luft gespült.

4.3.4.3. Auswertung

Die experimentellen Ergebnisse wurden in Prozent des gesamten Histamingehaltes (Completes) der Zellen angegeben :

$$\text{Histaminfreisetzung (\%)} = \frac{E - B}{C - B} \times 100$$

wobei E = der experimentelle Wert in ng/ml von der Probe mit Allergenlösung

B = Blanks, der Leerwert von der Probe mit TCM-Puffer

C = Complete, der Gesamthistamingehalt der Zellen von der Probe mit Perchlorsäure.

4.3.4.4. Reagenzien

- 0,1 M EDTA :

Titriplex III (Merck 8418) in 600 ml H₂O lösen, mit 50% NaOH (ca. 5ml) auf pH 7,2 einstellen und auf 1000 ml auffüllen.

- TCM-Puffer-10 Stock :

69,28 g NaCl (Merck 6464), 30 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (Merck 8382), 3,72 g KCl (Merck 4936) in 800 ml H₂O lösen, mit 1 M HCl (Titrisol Merck 9970) auf pH 7,4 einstellen und auf 1000 ml auffüllen.

- TCM-Puffer :

TCM-10 Stock 1:10 verdünnen, 100 ml TCM-10 Stock auf 1000 ml H₂O

- TCM-A-Puffer :
0,125 ml Humanserumalbumin (20%) auf 100 ml TCM-Puffer auffüllen.
- TCM-EDTA-Puffer :
0,125 ml Human serumalbumin (20%), 4 ml EDTA 0,1 M auf 100 ml TCM-Puffer auffüllen.
- TCM-ACM-Puffer :
0,125 ml Humanserumalbumin (20%), 2 ml 0,1 M CaCl_2 (Merck 2381), 0,5 ml 0,1 M MgCl_2 , auf 100 ml TCM-Puffer
- 0,1 M CaCl_2 :
1,1 g CaCl_2 auf 100 ml H_2O auffüllen
- 0,1 M MgCl_2 :
2,03 g MgCl_2 (Merck 5833), auf 100 ml H_2O auffüllen
- 5 N NaOH :
200 g NaOH (Merck 6482) auf 1000 ml H_2O auffüllen
- 2,2 M Phosphorsäure :
50 ml Phosphorsäure (Merck) auf 1000 ml H_2O auffüllen
- 0,4 N Perchlorsäure :
34 ml 70% Perchlorsäure (Merck 519) auf 1000 ml H_2O
- 0,5 M Boratpuffer:
31 g Borsäure (Merck 165), 20 g NaOH, auf 1000 ml H_2O auffüllen, pH auf 12,3 mit 5 N NaOH einstellen.
- OPT Reagenz :
40 mg OPT (Sigma P-1378), 2 ml Methanol (Merck 6009), auf 100 ml 0,5 M Boratpuffer auffüllen.
- Standardhistamin 1 mg/ml :
165,6 mg Histaminhydrochlorid werden in 100 ml 0,1 N Salzsäure aufgelöst. Aus dieser Lösung werden Standards von 10 ng/ml durch Verdünnen mit 0,4 N Perchlorsäure hergestellt.
- n-Butanol (Merck 1990)
- n-Heptan (Merck 4379)

5. ERGEBNISSE

Aufgrund des Untersuchungsdesigns ergeben sich für die Auswertung der Ergebnisse folgende Gruppen :

Gruppe A : besteht aus 11 Patienten mit extrinsic Asthma bronchiale, bei denen die PF-Werte und der Gesamthistamingehalt (totale Histaminfreisetzung) der basophilen Granulozyten gemessen wurden. Bei 4 Patienten dieser Gruppe wurden außerdem Histaminfreisetzung mit verschiedenen Hausstaubkonzentrationen zu verschiedenen Tageszeiten durchgeführt.

Gruppe K : besteht aus 4 Normalpersonen, bei denen PF-Werte und totale Histaminfreisetzung der basophilen Granulozyten ebenfalls zu verschiedenen Tageszeiten gemessen wurden.

5.1. Peakflow-Messungen

Nachdem die Mittelwerte für beide Gruppen gebildet worden sind, sollen zunächst die Ergebnisse der Peakflow-Messungen ausgewertet werden. Für die statistische Auswertung werden Friedman-Test und Wilcoxon/Wilcox-Test für multiple Vergleiche benutzt.

Gruppe A :

Die Nullhypothese, daß es keine Unterschiede zwischen den PF-Werten zu verschiedenen Tageszeiten gab konnte bei einem p-Wert von $< 0,01$ abgelehnt werden. Eine circadiane Rhythmik war deutlich zu sehen, wobei um 4⁰⁰ Uhr die PF-Werte deutlich niedriger lagen im Vergleich zu 20⁰⁰ Uhr ($p < 0,01$) und 14⁰⁰ Uhr ($p < 0,01$) (siehe Tab. 7).

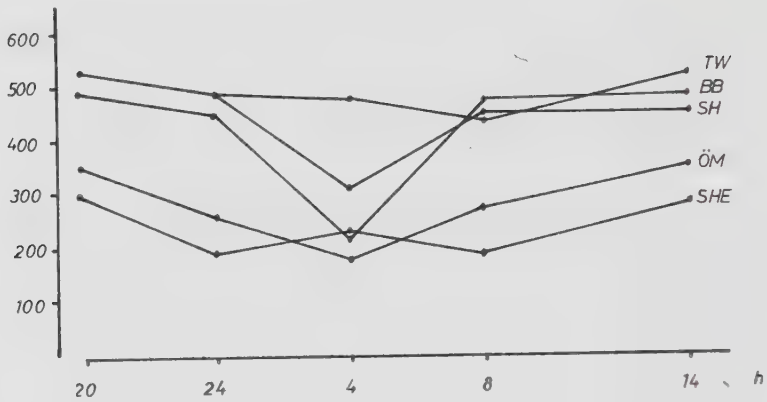
Bei 8 Patienten wurde ein Abfall der PF-Werte zwischen 24⁰⁰ und 4⁰⁰Uhr bzw. bei 7 Patienten ein Anstieg zwischen 4⁰⁰ und 8⁰⁰ Uhr beobachtet. Diese Schwankungen der PF-Werte lagen zwischen 300 und 400 l/min. (siehe Abb. 6 und 7)

Nr.	Patienten		P E A K E X P I R A T O R Y F L O W					l/min
	Name	Alter	w/m	20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰	
1	BB	35 J.	m	490	450	230	470	480
2	TW	47 J.	m	530	490	480	435	520
3	SH	55 J.	m	530	490	310	450	450
4	SHE	44 J.	w	300	190	230	190	280
5	ÖM	46 J.	m	350	260	180	270	350
6	RG	18 J.	w	470	400	360	450	470
7	PP	21 J.	w	430	370	360	350	460
8	AZB	29 J.	w	250	270	250	270	350
9	KJ	54 J.	m	470	450	450	470	550
10	DI	48 J.	w	200	150	140	225	225
			$\bar{x}$	402	352	299	358	413

Tab.7 : Peakflow-Werte zu verschiedenen Tageszeiten bei 10 Patienten mit extrinsic Asthma bronchiale. Die Werte von dem Patienten Nr. 11 (SE) wurden aufgrund eines methodischen bzw. persönlichen Fehlers (siehe Punkt 5.2.) bei der Auswertung nicht berücksichtigt.

PF l/min

- 49 -



PF l/min

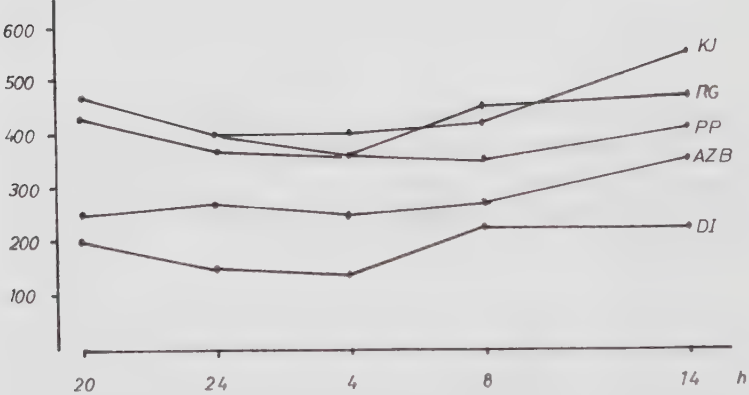


Abb.6 : Individuelle Peakflow-Kurven der einzelnen Patienten mit Asthma bronchiale.

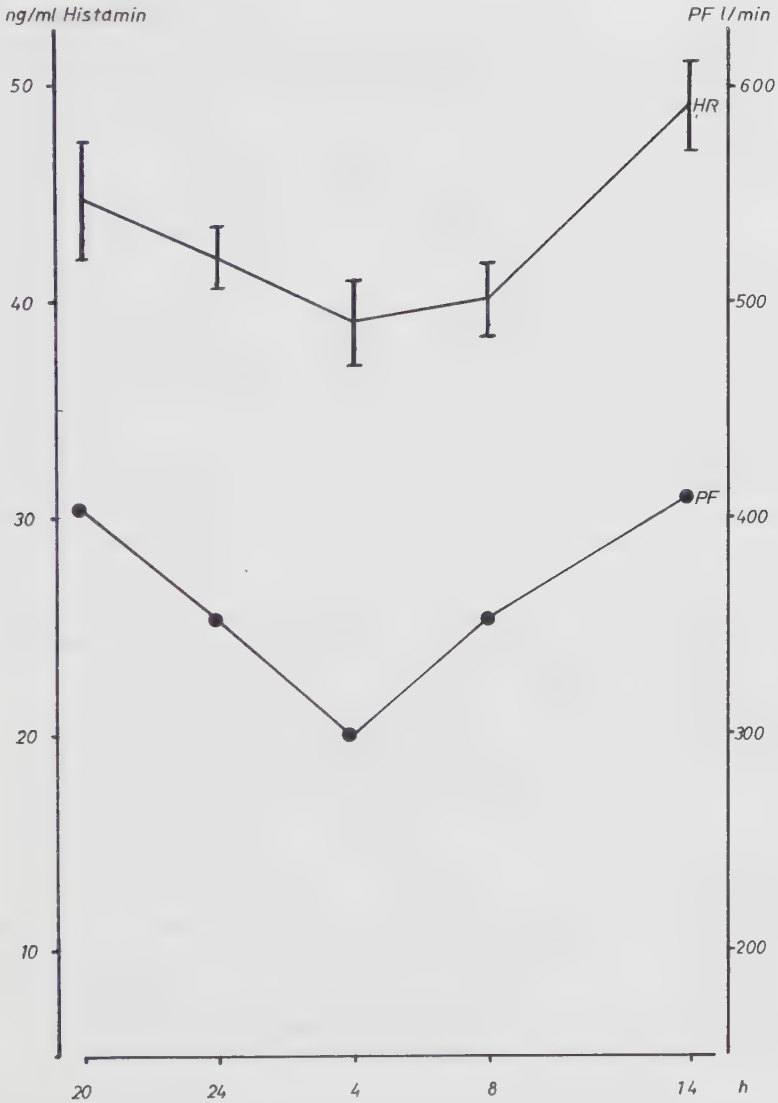


Abb.7 : Zirkadianer Rhythmus der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten und des PF bei Patienten mit Asthma bronchiale (n=10). Dargestellt in Mittelwerten mit Standardabweichung.

Gruppe K :

Bei der Kontrollgruppe schwankten die PF-Werte um 500 l/min. Insgesamt bestand eine etwa gleichbleibende PF-Werte über 24 Stunden. (siehe Abb. 8 B, 9 und Tab. 9)

5.2. Gesamthistaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten

Bei dem Patienten SE wurden extrem niedrige Gesamthistaminmengen gemessen, die um 3 ng/ml lagen. Diese könnten durch methodischen bzw. persönlichen Fehler verursacht worden sein und wurden deshalb bei der Auswertung sowohl der Gesamthistamin- als auch der Histaminfreisetzung mit Antigen nicht berücksichtigt.

Für die Auswertung wurden ebenfalls Mittelwerte der beiden Gruppen gebildet, die sich im folgenden ergeben :

Gruppe A :

Im Vergleich zu 14⁰⁰ Uhr bestand ein statistisch signifikanter Abfall des Gesamthistamingehaltes der Zellen um 4⁰⁰ Uhr ($0,05 > p > 0,01$) (siehe Tab. 10).

Im übrigen lassen sich Tendenzen beschreiben :

Zwischen 20⁰⁰ Uhr fiel die Kurve ab, und um 4⁰⁰ Uhr erreichte sie ihr Minimum. Danach stieg sie wieder an, und um 14⁰⁰ Uhr wurde der höchste Wert gemessen. (siehe Abb. 7 und 10).

Gruppe K :

Im Vergleich zu Asthmagruppe lagen die Schwankungen auf einem niedrigeren Niveau. (siehe Tab. 8)

Es bestand eine um etwa die Hälfte niedrigere Gesamthistaminfreisetzung, die um 20 ng/ml im Tagesverlauf schwankte. (siehe Abb. 8 A und 9)

5.3. Verhältnis der niedrigsten Werten von totalen Histaminfreisetzung und Peakflow untereinander

Wenn die niedrigsten PF-Werte mit den entsprechenden totalen Histaminfreisetzung-Werten bzw. die niedrigsten totalen His-

taminfreisetzung-Werte mit den entsprechenden PF-Werten verglichen werden, dann ergeben sich folgende Feststellungen :

Gruppe A :

Für die Asthmagruppe ergeben sich PF- und totale Histaminfreisetzung-Kurven, deren Tiefpunkt zwischen 2⁰⁰ Uhr und 6⁰⁰ Uhr morgen liegt. (siehe Abb. 11)

Gruppe K :

Im Gegensatz zu PF-Kurven der Asthmagruppe sind bei der Kontrollgruppe etwa gleichbleibende PF-Kurven über 24 Stunden festzustellen. Für die totale Histaminfreisetzung ist eine Erniedrigung in Morgenstunden andeutungsweise zu erkennen. (siehe Abb. 12)

5.4. Histaminfreisetzung mit Hausstaubextrakt

Bei den Histaminfreisetzungsversuchen mit Hausstaubextrakt wiesen die Basophilen von der Patienten AZB eine niedrige Freisetzungsbereitschaft auf (kleiner als 10%), die in der Diskussion behandelt wird. Diese wurde für die Auswertung deshalb nicht berücksichtigt. Nach Bildung der Mittelwerte von 2 Patienten (ÖM und KJ) wurden folgende Ergebnisse gewonnen :

- Die Freisetzungsbereitschaft ist ein konzentrationsabhängiger Vorgang. Auf Hausstaubextrakt reagierten die Basophilen optimal bei einer Konzentration von 10 PNU/ml. Eine weitere Steigerung führte sogar zu einem Abfall der Freisetzung.
- Ähnlich wie die Gesamthistaminfreisetzung unterliegt die Freisetzungsbereitschaft auch einer cirkadianen Rhythmik, deren Maximum um 24 Uhr gemessen wurde. Danach fiel die Kurve wieder ab, und verblieb in den Morgenstunden zwischen 4⁰⁰ Uhr und 8⁰⁰ Uhr auf diesem Niveau. Gegen mittag stieg sie wieder an. (siehe Abb.13 und Tab . 12)

Patienten		T O T A L H I S T A M I N E R E L E A S E						ng/ml 14 ⁰⁰
		Alter	w/m	20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰	
Nr.	Name							
01	AW	45 J.	w	13,14 ± 0,06	14,45 ± 0,05	11,50 ± 0,44	15,66 ± 0,94	15,88 ± 0,74
02	FL	21 J.	m	16,83 ± 0,20	17,66 ± 0,27	16,46 ± 0,43	15,36 ± 0,47	18,43 ± 0,80
03	HJ	18 J.	m	27,26 ± 0,47	25,95 ± 0,55	22,84 ± 0,46	28,32 ± 0,98	27,32 ± 0,22
04	MK	22 J.	w	20,36 ± 1,68	26,29 ± 0,62	19,80 ± 0,15	15,62 ± 0,84	23,51 ± 1,48
			$\bar{X}$	19,40 ± 0,60	21,09 ± 0,37	17,65 ± 0,37	18,74 ± 0,81	21,29 ± 0,81

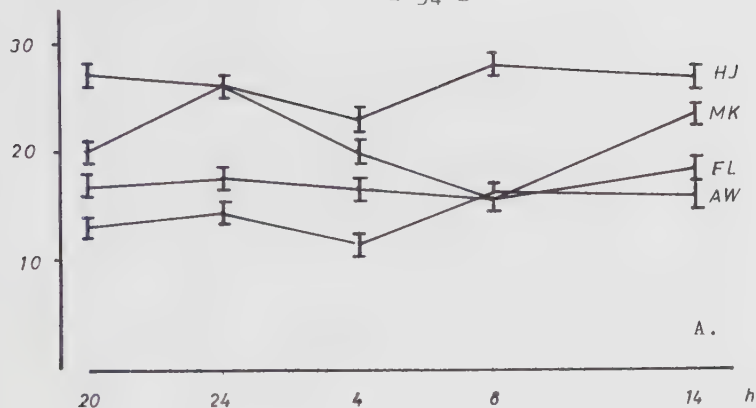
Tab. 8 : Gesamt-Histaminfreisetzung bzw. Gesamt-Histamingehalt der basophilen Granulozyten zu verschiedenen Tageszeiten bei 4 Normalpersonen. Mittelwerte mit Standardabweichung

Patienten		P E A K E X P I R A T O R Y F L O W						l/min 14 ⁰⁰
		Alter	w/m	20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰	
Nr.	Name							
01	AW	45 J.	w	480	500	460	490	450
02	FL	21 J.	m	460	480	470	450	450
03	HJ	18 J.	m	670	670	650	680	680
04	MK	22 J.	w	450	400	400	400	400
			$\bar{X}$	515	513	495	505	495

Tab. 9 : Peakflow-Werte zu verschiedenen Tageszeiten bei 4 Normalpersonen.

ng/ml Histamin

- 54 -



PF l/min

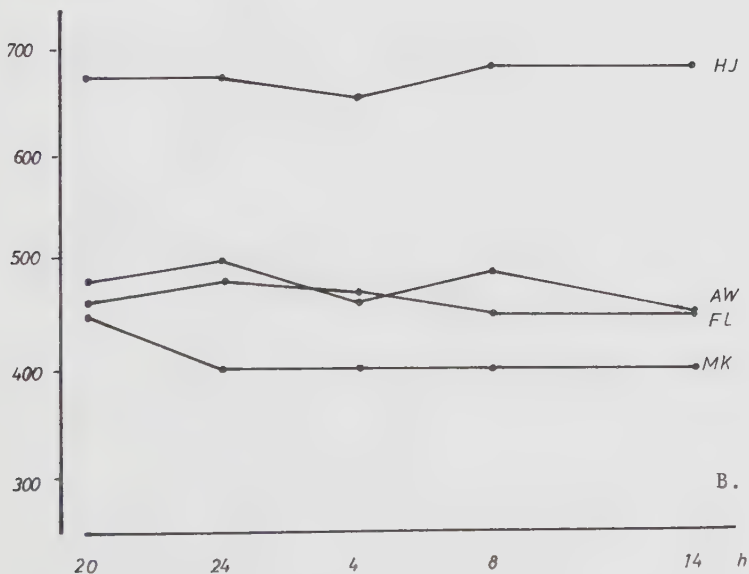


Abb.8 A und 8 B : Individuelle Kurven der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten und des PF bei Normalpersonen.

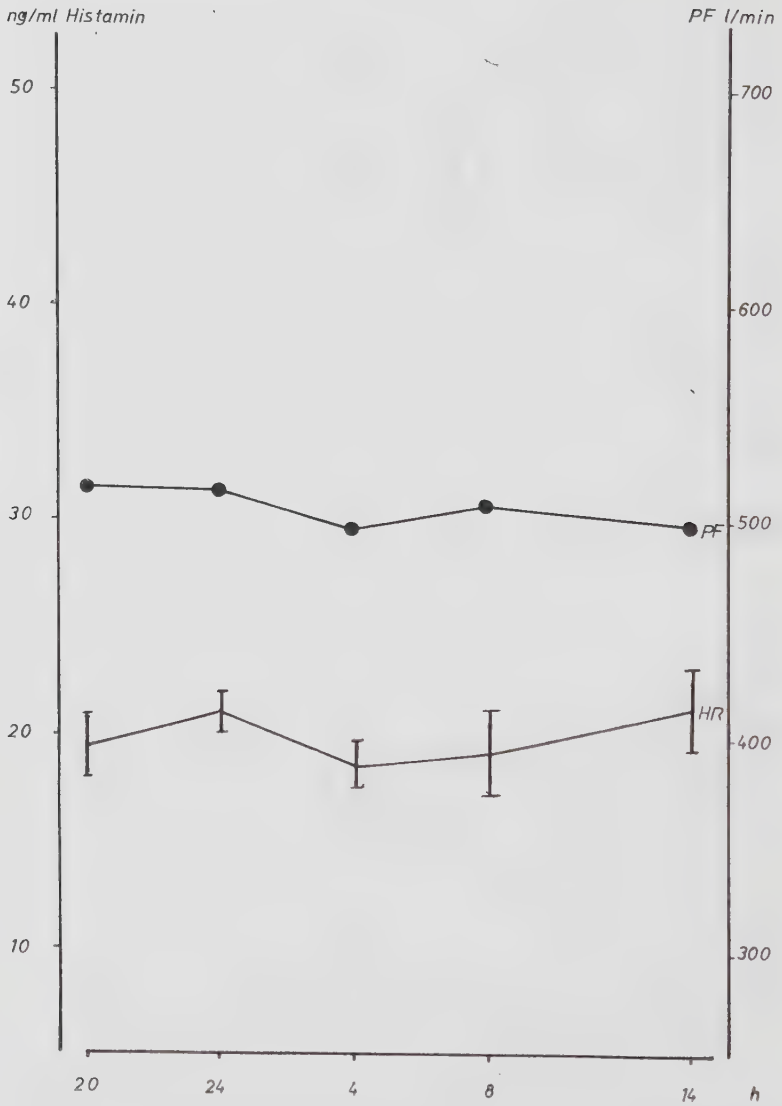


Abb.9 : Zirkadianer Rhythmus der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten und des PF bei Normalpersonen.

Nr.	Patienten		T O T A L H I S T A M I N E					R E L E A S E		ng/ml 14 ⁰⁰
	Name	Alter	w/m	20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰			
1	BB	35 J.	m	48,69 ± 3,04	36,29 ± 0,86	31,17 ± 1,55	33,79 ± 1,24			46,56 ± 0,97
2	TW	47 J.	m	29,92 ± 0,79	24,15 ± 1,47	23,35 ± 0,53	20,85 ± 1,32			34,60 ± 3,10
3	SH	55 J.	m	35,43 ± 1,62	31,17 ± 1,04	36,43 ± 3,17	39,82 ± 1,79			45,32 ± 0,86
4	SHE	44 J.	w	34,10 ± 3,06	28,28 ± 0,58	30,98 ± 0,82	37,62 ± 2,13			24,10 ± 2,17
5	ÖM	46 J.	m	42,61 ± 2,59	63,95 ± 0,51	56,74 ± 2,42	50,07 ± 1,15			64,13 ± 4,57
6	RG	18 J.	w	45,77 ± 2,58	55,34 ± 2,51	45,20 ± 1,03	54,75 ± 0,71			50,50 ± 0,47
7	PP	21 J.	w	79,15 ± 4,79	71,02 ± 1,20	55,60 ± 1,92	45,76 ± 1,69			84,07 ± 0,96
8	AZB	29 J.	w	42,97 ± 0,59	33,00 ± 0,28	31,82 ± 0,59	30,93 ± 0,94			42,83 ± 1,41
9	KJ	54 J.	m	51,77 ± 3,59	40,05 ± 2,65	46,50 ± 1,43	40,23 ± 1,02			57,83 ± 2,07
10	DI	48 J.	w	37,56 ± 1,77	35,98 ± 1,08	33,86 ± 0,78	46,70 ± 2,47			37,89 ± 0,45
			$\bar{x}$	44,80 ± 2,26	42,22 ± 1,22	39,16 ± 1,63	40,05 ± 1,45			48,78 ± 1,70

Tab.10 : Gesamt-Histaminfreisetzung bzw. Gesamt-Histamingehalt der basophilen Granulozyten zu verschiedenen Tageszeiten bei 10 Patienten mit extrinsic Asthma bronchiale.
 Angegebene Zahlen sind Mittelwerte mit Standardabweichung.

ng/ml Histamin

- 57 -



ng/ml Histamin

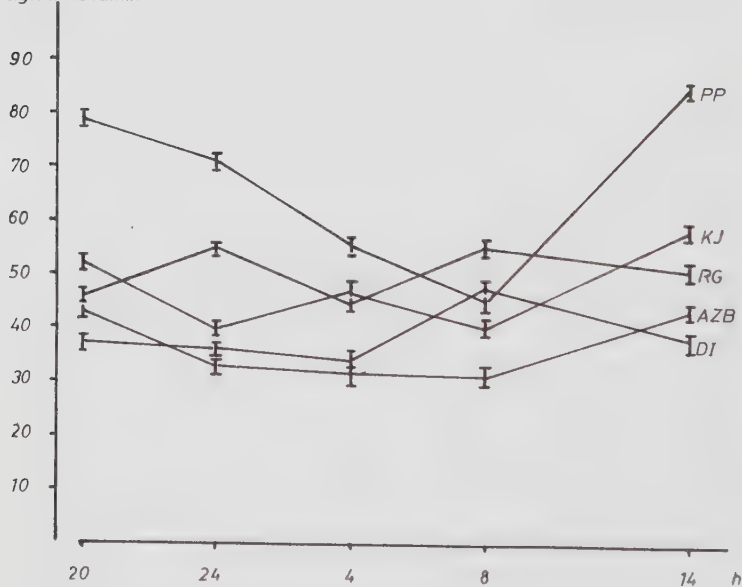


Abb.10 : Individuelle Kurven der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten bei Patienten mit Asthma bronchiale.

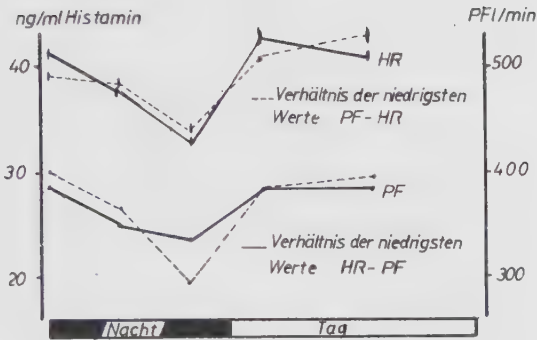


Abb.11 : Zirkadianer Rhythmus der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten und des PF bei Patienten mit Asthma bronchiale (n=10).

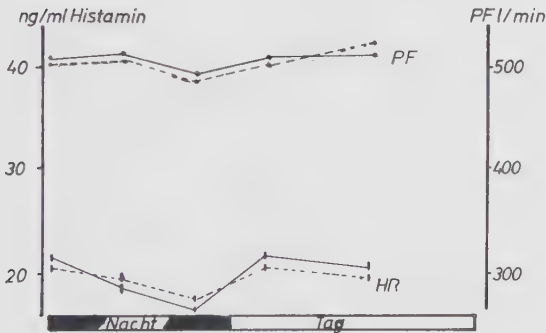


Abb.12 : Zirkadianer Rhythmus der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten und des PF bei Normalpersonen.

Haustaub- konzentration PNU/ml	Patienten- initialen	% HISTAMINE RELEASE				
		20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰	14 ⁰⁰
100	ÖM	51,31	52,20	42,23	41,74	45
	KJ	40,06	49,19	24,64	34,61	41,09
	$\bar{X}$	45,69	50,70	33,44	38,18	43,05
10	ÖM	62,74	76,25	57,84	67,79	47,97
	KJ	43,62	65,11	45,85	40,19	64,91
	$\bar{X}$	53,18	70,68	51,85	53,99	56,44
1	ÖM	35,12	40,94	28,92	28,05	32,65
	KJ	27,48	39,47	28,70	30,81	34,65
	$\bar{X}$	31,3	40,21	28,81	29,43	33,65

Tab.11: Prozentuale Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten unter Einfluß verschiedener Hausstaubextrakt-Konzentration.

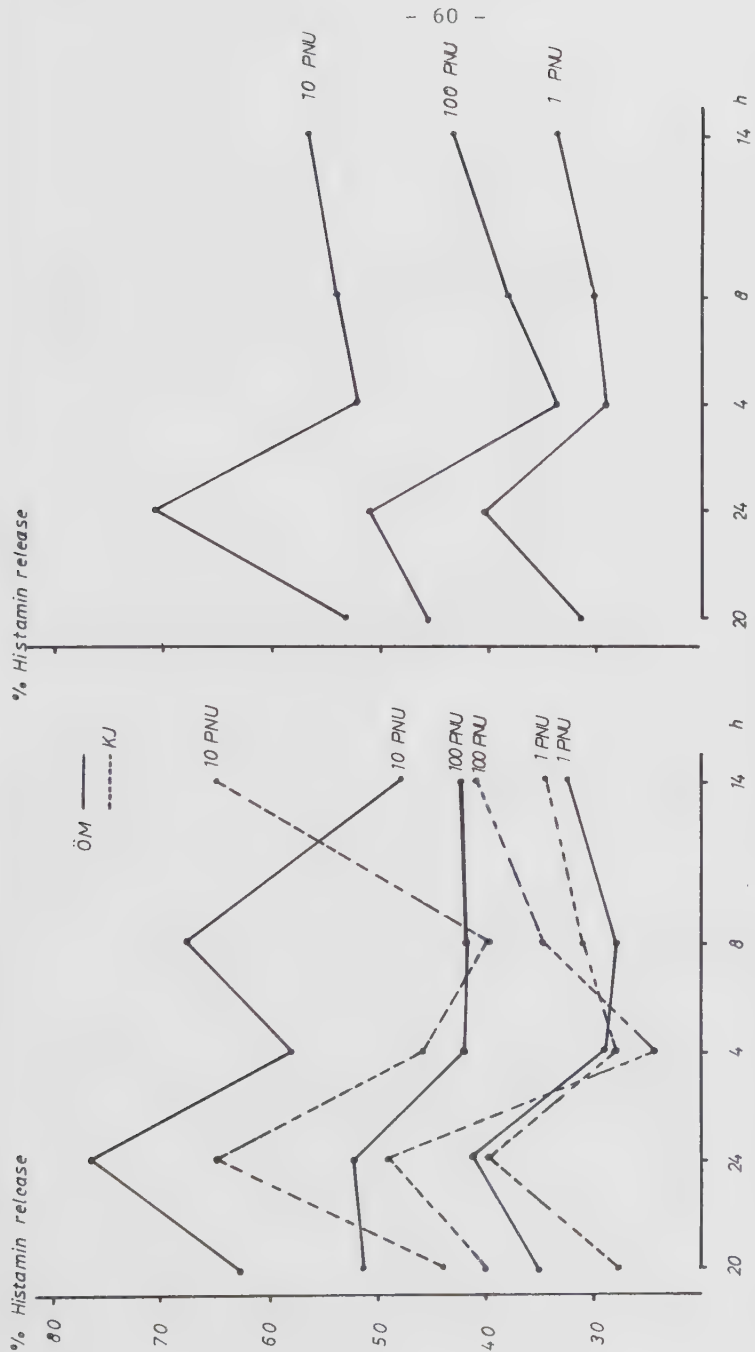


Abb.13 : Individuelle Kurven der prozentualen Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten bei verschiedenen Hausstaubextrakt-Konzentration über 24 Stunden (links) und zirkadianer Rhythmus der Freisetzungsbereitschaft aus Mittelwerten von 2 Patienten (ÖM und KJ, rechts).

5.5. Medikamenten-Verbrauch

Während der Untersuchung haben 8 der 11 Asthmapatienten, das sind 72,72 %, β -Symphatikomimetika in Form von Dosieraerosol anwenden müssen. Eine Patientin (PP) benutzte Aarane (DNCG + Reproterol, sonst Sultanol (Salbutamol). Es ist bemerkenswert, daß die Anwendung dieser Präparate überwiegend in der Nacht zwischen 24⁰⁰ Uhr und 6⁰⁰ Uhr stattgefunden hat. Allerdings mußten 3 Patienten am Tage ebenfalls β -Symphatikomimetika benutzen.

5.6. Besondere Vorkommnisse

Wie bereits erwartet wurde, gaben 9 der untersuchten Patienten der Asthmagruppe (81,82%) Beschwerden während dieser Studie an. Die Beschwerden traten am meisten in dem Zeitraum zwischen 24⁰⁰ Uhr und 6⁰⁰ Uhr auf. Die meisten Patienten bekamen Hustenattacken, Oppressionsgefühl bis hin zum Atemnotanfall bei einer Patientin (DI), wobei eine i.v. Verabreichung von 0,24 g Theophyllin und 50 mg Urbason erforderlich war. Dieser Atemnotanfall trat zum Schluß der Studie um 8⁰⁰ Uhr morgens auf, so daß die Histaminfreisetzung dadurch nicht beeinträchtigt wurde. Ferner bekamen 2 Patienten jeweils um 8⁰⁰ Uhr Nasenblockade und bei einer Patientin wurde Urticaria an ihrer linken Ellenbeuge - begleitet mit Juckreiz und Dyspnoe - festgestellt. (siehe Abb. 14).

Bei der Kontrollgruppe waren keine besondere Vorfälle zu verzeichnen. Insgesamt verlief die Studie bis auf die oben beschriebenen Zwischenfälle ohne Komplikation. Die Compliance der Probanden aus beiden Gruppen war ausgezeichnet.

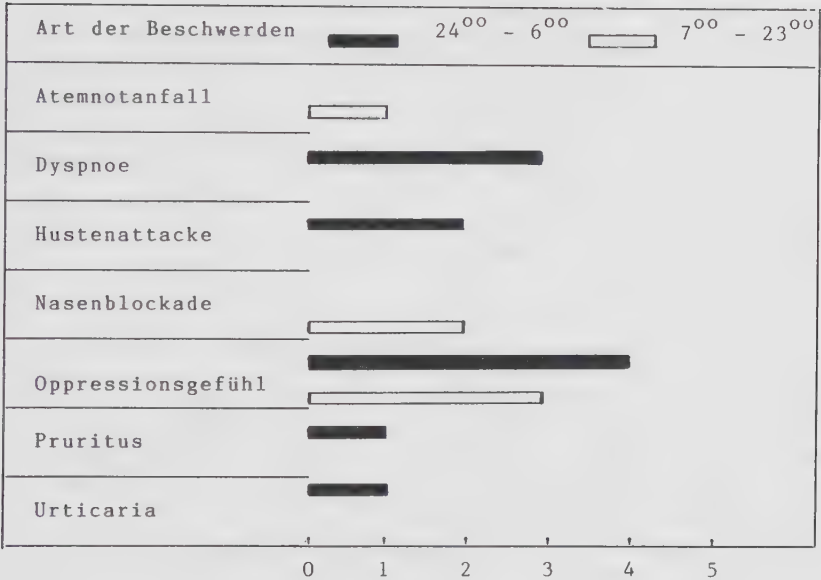


Abb.14 : Häufigkeit und Art der Beschwerden während der Untersuchung bei 11 Patienten mit extrinsic Asthma bronchiale.

6. DISKUSSION

6.1. Totale Histaminfreisetzung

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß der Histamingehalt der Zellen um 4⁰⁰ Uhr am niedrigsten gemessen wurde. Dies könnte die Folge einer spontanen Histaminfreisetzung in vivo bei den untersuchten Asthmapatienten sein, die demzufolge einer cirkadianen Rhythmik unterliegt. Dies muß nicht bedeuten, daß in der Tat die spontane Histaminfreisetzung genau um 4⁰⁰ Uhr am niedrigsten ist, da der Blutabnahmezeitpunkt gewählt wurde. Die biologische Varianz liegt hier vermutlich zwischen 2⁰⁰ und 6⁰⁰Uhr.

Bei gesunden Personen fanden TOWNHEND und SMITH (178) eine cirkadiane Variation der Katecholamine im Urin, deren Minimum zwischen 1⁰⁰ Uhr und 5⁰⁰ Uhr lag. Diese tageszeitliche Schwankungen konnten SOUTAR et al. (159) auch bei Asthmapatienten zeigen, und es bestand dabei eine Korrelation zwischen dem Katecholamingehalt im Urin und dem Peakflow-Abfall.

BARNES et al. (13) lieferten 1980 einen entscheidenden Beitrag zur Aufklärung der nächtlichen Asthmaanfälle. Diese Arbeitsgruppe konnte eine cirkadiane Rhythmik für Plasmaadrenalin, Plasmahistamin, c-AMP und Plasmacortisol feststellen. Die Adrenalin-konzentration im Plasma erreichte ihr Minimum um 4⁰⁰ Uhr und das Maximum um 16 Uhr. Der Abfall des Adrenalins in den Morgenstunden korrelierte mit dem Peakflow-Abfall. Dies läßt darauf schließen, daß die protektive Wirkung des Adrenalins bezüglich der Bronchokonstriktion um diese Zeit verändert ist und die Anfälle dadurch gefördert werden. Ferner nahm BARNES an, daß Adrenalin außer der direkten Wirkung auf die Bronchialmuskulatur noch indirekt über eine Hemmung der Freisetzung von Mediatoren aus Mastzellen der Lunge die Bronchokonstriktion verhindert. In der Tat können die Ergebnisse der vorgelegten Arbeit diese These unterstützen.

Neben dem Einfluß des Adrenalins auf die spontane Histaminfreisetzung können die cholinergischen Reize eine Rolle spielen. RING et al. (146) konnten bei Patienten mit atopischem Ekzem eine Steigerung der Anti-IgE-induzierten Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten durch Zusatz von Carbamylcholin beobachten. Ferner wurde in vitro eine Histaminfreisetzung nach cholinergischer Stimulation aus menschlichen Lungenfragmenten (KALLINER, 78), Ratten-Mastzellen (SCHMUTZLER et al., 175; SULLIVAN et al., 166) sowie von adenoidalen menschlichen Mastzellen von Atopikern (SCHMUTZLER et al., 175) beobachtet. Weiterhin zeigte eine Messung des intrazellulären c-GMP-Spiegel einen verstärkten Anstieg nach Stimulation mit Methylcholin bei Atopikern im Vergleich zu Normalpersonen (RING et al., 147). Aus der Praxis wissen wir, daß Asthmatiker eine verstärkte bronchiale Reaktion nach Acetylcholin-Inhalation aufweisen. Untersuchungen über die Vagus-Aktivität in den Bronchien bei Astmapatienten wurden noch nicht durchgeführt bzw. sind noch nicht möglich. CLARKE et al. (31) und BARNES et al. (14) haben jedoch indirekt eine erhöhte Vagus-Aktivität in den Morgenstunden durch eine 24 stündige Registrierung des Herzrhythmus gezeigt. Der Abfall des Adrenalins und der Einfluß von cholinergen Reizen können die in der vorliegenden Arbeit beobachtete spontane in vivo Histaminfreisetzung in den Morgenstunden erklären.

Zu diskutieren wäre noch der Einfluß des Cortisols auf die circadiane Rhythmik der spontanen Histaminfreisetzung. Wir wissen aus der Praxis, daß Corticosteroide eine gute Wirkung in der Behandlung von Asthma bronchiale besitzen. Man könnte annehmen, daß auch Cortisol-Schwankungen die spontane Histaminfreisetzung modulieren. SOUTAR et al. (160) und BARNES et al. (13) fanden jedoch keine phasengleiche Beziehung zwischen dem Cortisol-Abfall und der Bronchokonstriktion. Der Cortisolspiegel fällt dabei 4 Stunden vor der Bronchokonstriktion ab. SOUTAR et al. (160) konnten ferner zeigen, daß Hydrocortison-Infusionen nachts die Asthmaanfälle nicht verhindern konnten. Auf der anderen Seite könnte unter dem Abfall des Cortisols um 24⁰⁰ Uhr die Synthese

von Proteinen (Makrokortin, Lipomodulin) herabgesetzt werden, welche die Aktivierung der Phospholipase A_2 inhibieren. Die aktivierte Phospholipase A_2 kann dann die Arachidonsäure freisetzen und mit nachfolgender Transformation zu Leukotrienen und Prostaglandinen zur Bronchokonstriktion führen. Die Lipoxygenase-Faktoren - bereits unter Punkt 3.3.1. behandelt - können die Histaminfreisetzung fördern. Das um 4⁰⁰ Uhr gemessenen Minimum an Gesamthistamingehalt der Basophilen könnte als Resultat einer bereits um 24⁰⁰ Uhr angefangenen spontanen Histaminfreisetzung interpretiert werden. Ab 4⁰⁰ Uhr steigen Cortisolspiegel (BARNES et al., 13) und Gesamthistamingehalt der Zellen langsam wieder an.

6.2. Histaminfreisetzung mit verschiedenen Allergenkonzentrationen

Die Untersuchung über die Releasability (Freisetzungsbereitschaft) der Basophilen zu verschiedenen Tageszeiten ergab auch für die IgE-induzierte Histaminfreisetzung eine zirkadiane Rhythmik, die um 24⁰⁰ Uhr am höchsten war, gegen 4⁰⁰ Uhr war ein Abfall zu verzeichnen.

Der starke Anstieg der in vitro Freisetzungsbereitschaft zwischen 20⁰⁰ Uhr und 24⁰⁰ Uhr (siehe Abb.13) könnte durch den parallelen Abfall des Cortisol- und des Plasmaadrenalin (BARNES et al., 13) bedingt sein. Zwischen 24⁰⁰ Uhr und 4⁰⁰ Uhr begann der Anstieg des Cortisols, während der Adrenalin Spiegel weiter abfiel (BARNES et al., 13). Man würde eine verstärkte in vitro Freisetzungsbereitschaft während dieser Zeit erwarten. Durch den bereits zwischen 20⁰⁰ Uhr und 24⁰⁰ Uhr angefangenen Anstieg bzw. eine Erniedrigung der totalen Histamingehalt der Zellen - eine Folge der spontanen in vivo Histaminfreisetzung - kam es jedoch zu einer " in vivo - Desensibilisierung " der Zellen. Mit anderem Wort waren die Basophilen auf weitere Reize in vitro refraktär geworden. So könnte die Hyporeaktivität der basophilen Granulozyten in den Morgenstunden auf Antigenreiz in vitro erklärt werden.

Ähnliches Phänomen der "Desensibilisierung" fand LICHTEN - STEIN (99) nach einer Präinkubation der Zellen in vitro mit Antigen in Abwesenheit von Kalzium. Die Zugabe weiterer Antigene und Kalzium brachte keine zusätzliche Histaminfreisetzung. Es scheint, daß diese "Desensibilisierung" gleichzeitig mit der Zellaktivierung erfolgt. KAGEY-SOBOTKA et al. (76*) haben einen Vorgang der Deaktivierung beschrieben, bei dem die basophilen Granulozyten die Fähigkeit verlieren, auf weitere Zugaben von Antigen zu reagieren. Für die Deaktivierung sollen Enzyme verantwortlich sein, die vermutlich zu einem Verlust von IgE-Rezeptorkomplexen führen (BENEVISTE, 19; KÖNIG et al., 91).

Eine weitere mögliche Erklärung für die Hyporeaktivität der Basophilen wäre noch der hohe Histaminspiegel im Blut um 4⁰⁰ Uhr bzw. in den Morgenstunden (BARNES et al., 13). Die Substanzen, welche den c-AMP-Spiegel erhöhen inhibieren die Antigen-induzierten Histaminfreisetzung. Dazu gehören u.a. Iso- proterenol, PG E₁, Cholera-Enterotoxin und auch Histamin (LICHTENSTEIN, 99). Histamin kann seine Wirkung über die H₂- Rezeptoren der Basophilen entfalten, und zwar im Sinne einer Herabsetzung der IgE-induzierten Histaminfreisetzung (HER - ZOG, 62).

Die vorgelegte Arbeit zeigt deutliche Parallelen zu den Untersuchungen von MC GOVERN et al. (117) und REINBERG et al. (143,144) auf. Sie beobachteten, daß sich Kutanreaktionen vom Frühtyp (Penicillin, Gräserpollen usw.) nicht gleichmäßig und tageszeitlich konstant äußern, sondern daß ihre Intensität ebenfalls tagesrhythmisch und invers zum Tagesverlauf des Serumcortisols schwankt, wobei am frühen Morgen die Reaktionen am schwächsten und am späten Abend ihr Maximum erreicht. Dieses Maximum der Hautreaktion korreliert zeitlich mit dem tageszeitlichen Minimum der Hydrocortison-Ausscheidung im Urin bzw. dem tageszeitlichen Minimum des Serumcortisolspiegels.

6.2.1. Non responder

Bei einer Patientin (AZB) betrug die Histaminfreisetzung bei verschiedenen Allergenkonzentrationen weniger als 10% der gesamten Histaminfreisetzung (total release). Bei der Patientin war die Hautreaktion auf Hausstaubextrakt deutlich positiv, Rast-Klasse 2, das Gesamt-IgE 211 U/ml. Auch der bronchiale Provokationstest war positiv. Die Hyposensibilisierung wurde 2 Jahre lang durchgeführt und die Beschwerden sind im Vergleich vor der Hyposensibilisierung deutlich besser geworden. Die verminderte Freisetzung könnte auf einen Therapieerfolg, der zu einer Desensibilisierung der Basophilen geführt hat basieren. LICHTENSTEIN et al. (101) und NORMAN et al. (129) haben dieses Phänomen bei einigen Probanden ebenfalls beobachtet. MAY et al. (113) berichteten über die Unfähigkeit der Basophilen, Histamin freizusetzen. Eine Erklärung sahen die Autoren in dem nicht gut eingestellten Medium. NORMAN et al. (129) konnten jedoch diese Behauptung nicht bestätigen. Sie haben keine signifikante Steigerung der Freisetzung durch Zusatz von Humanserum zu dem Medium feststellen können. Als mögliche Erklärungen wurden im folgenden genannt :

- a. Sensibilisierung mit anderen Allergenen
- b. Anderer Mechanismus als die übliche IgE-induzierte Histaminfreisetzung
- c. keine allergische Erkrankung überhaupt (NORMAN et al., 129).

Für die Patientin AZB käme die Erklärung b in Frage, die beiden anderen können aufgrund der sorgfältigen Diagnostik ausgeschlossen werden. Eher könnte man eine Veränderung der IgE-Rezeptoren im Sinne einer verminderten Empfindlichkeit gegenüber den sensibilisierenden Allergenen im Laufe der Hyposensibilisierung annehmen. BORG und KÖNIG (22) nahmen eine zu kurze Einwirkungszeit der Allergene auf IgE an.

6.3. Andere diskutierte Pathomechanismen der nächtlichen Asthmaanfälle

Lange Zeit wurden die Allergene wie Hausstaubmilbe und Feder als die Ursachen der nächtlichen Asthmaanfälle angenommen (MAUNSELL et al., 112). PLATTS-MILLS et al. (138) haben eine Besserung der Beschwerden und PF-Werte bei Patienten beobachtet, die im Krankenhaus für längere Zeit wohnten. Dabei wurde eine Besserung der bronchialen Reaktion auf Histamin bei der Hälfte der Probanden festgestellt. Dieser Faktor kann jedoch nicht ausschließlich für die Entstehung der Anfälle als Erklärung dienen, da auch bei Patienten mit intrinsic Asthma bronchiale bzw. nicht allergisch bedingtem Asthma diese typische Rhythmik der bronchiale Obstruktion besteht (CONNOLLY,35).

BRYAN et al. (25) fanden, daß die Schlafposition Veränderungen in der Vitalkapazität, der Gasverteilung in der Lunge und des pulmonalen Blutstromes mit sich bringt. Es scheint, daß die Körperlage auch die bronchiale Sensitivität auf inhaliertes Histamin und damit möglicherweise auf inhalative Allergene fördert (BOUHUYS, 23). SOUTAR et al. (160) fand jedoch keine Besserung der Beschwerden bei Patienten, die mit erhöhtem Oberkörper schliefen.

Die Rolle des Schlafes bei den nächtlichen Asthmaanfällen ist widersprüchlich. Bei Hunden (SULLIVAN et al., 164) und Normalpersonen (LOPES et al., 104) bestehen Schwankungen in dem Atemwegswiderstand. RAVENSCROFT und HARTMANN (141) berichteten, daß die nächtliche Asthmaanfälle mehr in der REM-Phase auftraten. Andere Autoren konnten dies nicht bestätigen (KALES et al., 77; MONTPLASIR et al., 121). HETZEL und CLARK (63) konnten zeigen, daß der nächtliche PF-Abfall durch Aufwecken vor dem Zeitpunkt des Anfalls, durch Anstrengung und schließlich durch Wachbleiben der Asthmapatienten nicht verhindert werden konnte.

Ferner wurde die Frage der Lungensekretretention in diesem

Zusammenhang untersucht. Dabei fanden BATEMAN et al. (16), daß die mukociliare Reinigung in der normalen Lunge während des Schlafes in der Nacht beträchtlich reduziert war. Es ist allerdings unwahrscheinlich, daß die Bronchokonstriktion relativ schnell durch Inhalation von β -Sympathikomimetika aufgehoben werden kann. Die Tatsache, daß die Anfallsrhythmik auch bei Asthmapatienten ohne morgendlichen Auswurf - denen wir auch in der Praxis begegnen - bestehen bleibt, spricht gegen diese Annahme.

Es ist bekannt, daß die Körpertemperatur einer zirkadianen Rhythmik unterliegt (MOORE-EDE et al., 122). Der Abfall der Körpertemperatur bzw. der Temperatur der oberen und unteren Luftwege, -damit auch die Abkühlung der inspirierten Luft - in der Nacht kann zu einer Bronchokonstriktion führen (CHEN und CHAI, 30), ähnlich wie bei exercise induced asthma. Sie haben durch Inhalation von warmer Luft die Anfälle bei Asthmapatienten herabsetzen können.

DE VRIES et al. (180) hat gezeigt, daß die Asthmapatienten in der Nacht empfindlicher auf inhaliertes Histamin reagieren als am Tage. HETZEL und CLARK (64) haben ferner feststellen können, daß auch bei Normalpersonen (65,6%) eine zirkadiane Rhythmik der PF-Werte besteht, wobei die Amplitude (Differenz der maximalen und minimalen PF-Werte im Verhältnis zum Tagesmittelwert) 8,3 % betrug im Vergleich zu 50,9 % bei Asthmapatienten. Es wurde daraufhin angenommen, daß nächtliche Asthmaanfälle möglicherweise ein Resultat der übermäßiger Steigerung des normalen Rhythmus durch eine erhöhte Empfindlichkeit der Bronchien sind.

SZENTIVANYI (168) hat die Theorie der β -adrenergen Blockade bei Asthmapatienten eingeführt. Seitdem haben verschiedene Untersuchungen gezeigt, daß die Anzahl von β -Rezeptoren der Lymphozyten bei Asthmapatienten vermindert ist (KARIMAN und LEFKOWITZ, 80), die möglicherweise auf eine Tachyphylaxie nach längerer Therapie mit β -Sympathikomimetika zurückzu-

führen ist (NELSON et al., 127); CONOLLY und GREENACRE, 36; GALANT et al., 48). Auch bei unbehandelten Asthmapatienten fanden APOLD und AKSNES (5) eine verminderte Antwort der β -Rezeptoren während der Nacht, die die Anfälle mitbewirken. BARNES et al. (14) dagegen konnten keine Aufhebung der nächtlichen Obstruktion bei Asthmapatienten durch Adrenalin-Infusionen oder inhaliertes Adrenalin erreichen.

Weiterhin wurde die Frage des gastroösophagealen Reflux diskutiert. BABB et al. (11*) vermuteten, daß eine Mikroaspiration des Mageninhaltes in die Lunge die Bronchokonstriktion auslöste. GOODAL et al. (52) konnten dies jedoch nicht bestätigen. Es ist denkbar, daß die Aspiration von saurem Mageninhalt in die Lunge über eine Stimulation der Irritant-Rezeptoren zur Bronchokonstriktion führen würde. Eine andere Theorie wurde von MANSFIELD und STEIN (106*) eingeführt. Sie nahmen an, daß der in den unteren Ösophagus gelangte Mageninhalt über ösophageale Rezeptoren einen vagalen Reflex auslöst, damit die Bronchokonstriktion verursacht. Bei Kindern konnten DEES (43) und MOLKHOUS et al. (120) eine Besserung der Beschwerden durch Schlafen mit erhöhtem Oberkörper finden.

Zusammenfassend also ist das nächtliche Asthma als multifaktorielles Phänomen zu verstehen, wobei folgende Faktoren wohl maßgebend beteiligt sind :

1. Allergene (Hausstaubmilben, Feder)
2. Schlafposition
3. Abkühlung der inspirierten Atemluft
4. Übermäßige Steigerung der normalen Rhythmik des Bronchotonus
5. Verminderte Antwort der β -Rezeptoren
6. Lungensekretretention
7. Gastroösophagealer Reflux
8. Hohe Histaminkonzentration und niedrige Adrenalinkonzentration im Blut
9. Leaky mast cells

6.4. Therapie des nächtlichen Asthma bronchiale

Da der zirkadiane Rhythmus der atemmechanischen Parameter zu einer Besserung im Laufe des Vormittages führt, können klinische und funktionelle Untersuchungen, die üblicherweise während dieser Zeit erfolgen, regelrecht ausfallen, obwohl ein behandlungsbedürftiges Atemwegsleiden vorliegt. Ferner ist die Abschätzung einer obstruktiven Atemwegserkrankung aus folgenden Gründen nur unzureichend mit Hilfe der Anamnese und des körperlichen Untersuchungsbefunde gewährleistet :

- Die subjektive Wahrnehmung der Luftnot weist erhebliche interindividuelle Unterschiede auf (RUBINFELD et al., 151);
- Patienten fühlen sich nach einem schweren Anfall besser, obwohl die atemmechanischen Parameter erst 40%-50% der Sollwerte erreicht haben (MC FADDEN et al., 115);
- Der Schweregrad der Obstruktion kann selbst von erfahrenen Ärzten mit Hilfe der physikalischen Lungenbefunde nicht genau objektiviert werden (SHIM et al., 153).

Aus diesen genannten Gründen sollte bei Patienten mit nächtlichen Asthmaanfällen - dies ist ein genereller Gesichtspunkt für die gesamte Asthmatherapie - Selbstmessung der PF-Werte mit Eintragen in ein Protokolle vorgenommen werden. Die Effektivität der Medikation kann hierdurch sehr gut objektiviert werden.

Aus den beschriebenen Pathomechanismen der nächtlichen Asthmaanfälle können einige Therapieansätze abgeleitet werden. Bei gastroösophagealem Reflux haben GOODALL et al. (52) durch Gabe von 200 mg Cimetidin/die eine Besserung der Beschwerden erzielt. Ferner wurden Ketotifen und/oder DNCG neben der Anti-refluxtherapie zur Senkung der bronchialen Hyperreaktivität bei Kindern eingesetzt (MOLKHOUS et al., 120). Schlafen mit erhöhtem Oberkörper während der Nacht wurde von MOLKHOUS empfohlen.

Eine Bett- und Schlafzimmersanierung sollten bei einer nachgewiesenen Allergie gegen Hausstaubmilben und Bettfedern

durchgeführt werden, welche zu einer Reduzierung der Anfallshäufigkeit und der bronchialen Hyperreagibilität bei einigen Patienten geführt haben (PLATTS-MILLS et al., 138). Diese Maßnahme wird indirekt durch die Beobachtung von NEWMAN TAYLOR et al (128) gestützt, bei einigen Patienten die nächtlichen Asthmaanfälle nach Allergenexposition im Sinne eines "Priming" verstärkt wurden.

Obwohl H_1 -Rezeptoren-Blocker bei der Therapie von Asthma bronchiale wenig effektiv sind (KUNKEL et al., 93; LAURENCE und BENNETT, 95) können sie durch ihre sedierende und anticholinergische Wirkung vom Nutzen sein (HERXHEIMER, 61; RUDOLF, 152; WEISS und SEGAL 182).

Mit einer einmaligen Gabe eines retadierten Salbutamol-Präparates allein vor dem Schlafengehen oder zusätzlich mit morgendlicher Gabe konnte FAIRFAX (44) eine Besserung des nächtlichen Anfalls erzielen. Dabei blieb jedoch die diurnale Variation des Asthma bestehen. Patienten, die auf i.v.-Infusion von Salbutamol nicht angesprochen haben reagieren gut auf Inhalation von Salbutamol-Aerosole (FAIRFAX et al., 45). Es ist weiterhin unklar, auf welche Mechanismen diese Diskrepanzen zurückzuführen sind. STEWART et al. (161) berichteten, daß retadiertes Terbutalin die morgendliche PF-Werte nach dem Aufstehen besserten. Sie fanden ferner keine signifikante Unterschiede bezüglich der Häufigkeit bzw. der Schweregrade der transitorischen Hypoxämie und der Schlafphase in dem EEG im Vergleich zu Kontrollgruppe.

Bei der Theophyllin-Therapie muß die präparatebezogene Pharmakokinetik berücksichtigt werden. Es bestehen tageszeitliche Unterschiede im Bezug auf die Absorption und der Clearance von Theophyllin (GREENING, 54; KAUKEK et al., 81; SYBRECHT, 167; TAYLOR et al., 177), welche zu einem höheren Plasmaspiegel am Tage führen (GREENING, 54; SYBRECHT, 167). Als Ursachen dafür wurden die Körperlage während des Schlafes, die Nahrungsaufnahme, eine zirkadiane Änderungen der Clearance

(GREENING, 54) und eine unterschiedliche Metabolisierung vermutet (TAYLOR et al., 177). KAUKELE et al. (81) haben keine tageszeitliche Unterschiede des Theophyllinspiegels zwischen der i.v.-Verabreichung um 8⁰⁰ Uhr und 36 Stunden später um 20⁰⁰ Uhr gefunden. Eine zirkadiane Rhythmik der gastrointestinalen Resorption könnte die Pharmakokinetik beeinflussen. Die Anwendung der retardierten Theophyllin-Präparate bei nächtlichem Asthma ist zur Zeit verbreitert (BARNES et al., 15; FAIRFAX et al., 45; GREENING, 54; KUNKEL et al., 94; RODRIGUEZ et al., 49; SYBRECHT, 167). So hat die Aufklärung der pathophysiologischen Zusammenhänge des nächtlichen Asthmas zu einer Neuorientierung der Theophyllintherapie geführt. Bei zeitgerechter Anpassung der Theophyllingabe an den individuellen bronchomotorischen Tonus kann nächtliche Anfälle gut beherrscht werden.

7. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die tageszeitlichen Schwankungen der totalen Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten von 11 Patienten mit extrinsic Asthma bronchiale untersucht. Bei 4 Patienten wurde zusätzlich die Histaminfreisetzung unter dem Einfluß von verschiedenen Hausstaubextraktkonzentrationen bestimmt. Bei allen Probanden wurden auch Peakflow (PF)-Messungen durchgeführt.

Zunächst wird die Bedeutung der biologischen Rhythmen des Menschen bei der Betrachtung der Problematik des nächtlichen Asthma bronchiale dargestellt. Dann folgt eine Abhandlung über die Funktion der basophilen Granulozyten und der Mastzellen im Rahmen einer allergischen Reaktion, sowie deren Eigenschaften und vor allem deren Herkunft. Zum besseren Verständnis der IgE-induzierten Histaminfreisetzung werden die immunologisch biochemischen Membranvorgänge und die intrazellulären Mechanismen, welche zur Sekretion des Histamins führen, erörtert. Anschließend werden Histamin und die Prozedur seiner Freisetzung aus basophilen Granulozyten eingehend beschrieben.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß eine zirkadiane Rhythmik in der Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten sowie in PF-Werten bestand.

- Die PF-Werte der Asthmagruppe schwankten zwischen 300 l/min und 400 l/min im Vergleich zu den Werten der Kontrollgruppe, die um 500 l/min im Tagesverlauf schwankten. Um 4⁰⁰ Uhr war ein signifikanter Abfall ($p < 0,01$) im Vergleich zu den PF-Werten von 20⁰⁰ Uhr und 14⁰⁰ Uhr zu verzeichnen.

- Bei der Kontrollgruppe wurde eine um die Hälfte niedrigere spontane Histaminfreisetzung aus basophilen Granulozyten (20 ng/ml) als bei der Asthmagruppe gemessen. Die höchste spontane Histaminfreisetzung war bei der Asthmagruppe ebenfalls um 4⁰⁰ Uhr zu verzeichnen. Diese könnte durch den Adrenalin- bzw. Cortisolabfall im Serum und die Steigerung der cholinergischen Reize in den Morgenstunden erklärt werden.

- Die Histaminfreisetzung nach Provokation mit Hausstaubextrakt war ein konzentrationsabhängiger Vorgang. Ihr Maximum wurde bei einer Konzentration von 10 PNU/ml erreicht. Eine darüberhinausgehende Steigerung führte zu einem Abfall der Histaminfreisetzung. Eine amximale Freisetzungsbereitschaft durch Hausstaubprovokation, die durch den gemeinsamen Abfall der Adrenalin- und Cortisolkonzentration zu erklären wäre, war um 24⁰⁰ Uhr zu erzielen. Danach - in den Morgenstunden - fiel sie ab, und im Laufe des Tages stieg sie wieder an. Als Ursache der Hyporeaktivität der Basophilen in den Morgenstunden wurden die Depletion der Basophilen an Histamin und der hohe Histaminspiegel im Serum diskutiert. Der letztere könnte als negativer Feedback-Mechanismus die IgE-induzierte Histaminfreisetzung vermindern.

- Bei einer Patientin (AZB) wurde eine niedrige Histaminfreisetzung nach einer Provokation mit Hausstaubextrakt (10 %) erzielt. Diese " Non responder " - Reaktion könnte mit einer verminderten Empfindlichkeit der IgE-Rezeptoren gegenüber den sensibilisierenden Allergenen im Laufe der Hyposensibilisierung erklärt werden.

Nächtliches Asthma ist somit ein Phänomen mit multifaktorieller Genese, wobei die spontane Histaminfreisetzung in den Morgenstunden eine bedeutende Rolle spielt neben anderen in der Literatur diskutierten Pathomechanismen.

In der Literatur wird die retadierte Theophyllin-Präparate am meisten empfohlen. Die zirkadiane Rhythmik ihrer Pharmakokinetik sollte berücksichtigt werden. Die Verabreichung am späten Abend (22⁰⁰ - 24⁰⁰) führt in meisten Fällen zu einer Besserung der Beschwerden. Ferner lassen sich aus den diskutierten Pathomechanismen einige Therapieansätze ableiten, die den Asthmapatienten vom Nutzen sein können.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADELSTEIN, R.S. (1980): Phosphorylation of muscle contractile proteins.
Fed. Proc. 39, 1544
2. ADELSTEIN, R.S. und R. EISENBERG (1980): Regulation and kinetics of actin - myosin ATP interaction.
Ann. Rev. Biochem. 49, 921
3. AKAM, R.M. und P.H. HOWARTH (1984): Differential effect of oral and inhaled salbutamol on mast cell-mediated bronchoconstriction in asthma.
Respiration 46, Suppl. 1, 2
4. ANDERSSON, P., M. CHIGNARD, C. BRAUGE, T. NILSSON, M. JUHLIN (1984): Effect of glucocorticosteroid (GCS) treatment on antigen-induced mediator release from sensitized guinea pig lungs.
Respiration 46, Suppl. 1, 4
5. APOLD, J. und L. AKSNES (1977): Correlation between increased bronchial responsiveness to histamine and diminished plasma cyclic adenosine monophosphate response after epinephrine in asthmatic children.
J. Allergy Clin. Immunol. 59, 393-397
6. ASCHOFF, J. (1978): Circadian Rhythmen des Menschen.
Arzneimittelforschung 28, 1850-1857
7. ASH, A.S.F. und H.O. SCHILD (1966): Receptors mediating some actions of histamine.
Br. J. Pharmac. Chemother. 27, 427-439
8. ASKENASE, P.W. (1980): Immunopathology of parasitic diseases. Involvement of basophil and mast cells.
Springer Seminar in Immunopathology 2, 417
9. ATKINS, P.C., M. NORMAN, H. WEINER (1976): Release of neutrophil chemotactic activity during immediate hypersensitivity reactions.
Ann. Intern Med. 86, 415
10. AUSTEN, K.F. und W.E. BROCKLEHURST (1960): Anaphylaxis in chopped guinea pig lung.
I. Effect of peptidase substrates and inhibitors.
J. Exp. Med. 113, 521
11. AXELROD, J. und F. HIRATA (1982): Phospholipid methylation and the receptor-induced release of histamine from cells.
TIPS 3, 156

- 11* BABB, R.R., J. NOTARANGELO, V.M. SMITH (1970): Wheezing-
a clue to gastro-oesophageal reflux.
Am. J. Gastroenterol. 53, 230-233
12. BARANY, M. und K. BARANY (1980): Phosphorylation of the
myofibrillar proteins.
Ann. Rev. Physiol. 42, 275
13. BARNES, P.J., G.A. FITZGERALD, M. BROWN und C.T. DOLLERY
(1980): Nocturnal asthma and changes in circulating
epinephrine, histamine and cortisol.
N. Eng. J. Med. 303, 263-267
14. BARNES, P.J., G.A. FITZGERALD, C.T. DOLLERY (1982): Cir-
cadian variation in adrenergic responses in asthma-
tic subjects.
Clin. Sci. 62, 349-354
15. BARNES, P.J., A.P. GREENING, L. NEVILLE, J. TIMMERS,
G.W. POOLE (1982): Single dose slow-release amino-
phylline at night prevents nocturnal asthma.
Lancet I, 299-301
16. BATEMAN, J.R.M., D. PAVIA und S.W. CLARKE (1978): The
retention of lung secretion during the night in nor-
mal subjects.
Clin. Sci. Molec. Med. 55, 523-527
17. BEAVEN, M.A. (1976): Histamine.
N. Eng. J. Med. 294, 30-36; 320-325
18. BECKER, E.L. und K.F. AUSTEN (1966): Mechanisms of immuno-
logic injury of rat peritoneal mast cells.
I. The effect of phosphonate inhibitors on the homo-
cytotropic antibody-mediated histamin release and
the first component of rat complement.
J. Exp. Med. 124, 379
19. BENEVISTE, J. (1981): Platelet activating factor (PAF-
acether).
Behring-Inst. Mitt. 68, 92
20. BERRIDGE, M.J. (1975): The interaction of cyclic
nucleotides and calcium in the control of cellular
activity.
Adv. cyclic Nuc. Res. 6, 1
21. BLACKWELL, G.J., R. CARNUCCIO, M. DI ROSA, R.J. FLOWER,
L. PARENTE, P. PERSICO (1980): Macro cortin: a poly-
peptide causing the anti-phospholipase effect of
glucocorticoids.
Nature 287, 147-149
22. BORG, K. und W. KÖNIG (1981): Neue in-vitro-Methodik in
der Allergologie: Histamin-Release-Test.
Dtsch. med. Wschr. 106, 1060-1064

23. BOUHUYS, A. (1963): Effect of posture in experimental asthma in man.
Am. J. Med. 34, 470
24. BRENNER, M. (1980): Die Antibradykinin-Wirkung verschiedener Antihistaminika.
Inaugural-Dissertation, F.U. - Berlin.
25. BRYAN, A.C., L.G. BENTIVOGLIO, F. BEEREL, H. MC LEISH, A. ZIDULKA und D.V. BATES (1964): Factors affecting regional distribution of ventilation and perfusion in the lung.
J. Appl. Physiol. 19, 395
26. BUGALHO DE ALMEIDA, A., L. COCHITO, J. VALENCA, M.F. COSTA (1984): Influence of H_1 and H_2 receptor blocker in histamine-induced bronchoconstriction.
Respiration 46, Suppl. 1, 79
27. BÜNNING, E. (1963): Die physiologische Uhr.
Springer Verlag, Berlin Heidelberg Göttingen.
28. CHAN, A.C., E.T. PRITCHARD, J.M. GERRAD, R.Y.K. MAN, P.C. CHOY (1982): Biphasic modulation of platelet phospholipase A_2 activity and platelet aggregation by meparine (quinacrine).
B. B. Acta 713, 170
29. CHAND, N. (1979): In vitro anaphylaxis in guinea pig lung: Evidence for the protective role of histamine H_2 receptors.
Eur. J. Pharmacol. 55, 337-339
30. CHEN, W.J. und H. CHAI (1982): Airway colling and nocturnal asthma.
Chest 81, 675-680
31. CLARKE, J.M., J. HAMER, J.R. SHELTON, S.TAYLOR, G.R. VENNING (1976): The rhythm of the normal human heart.
Lancet II, 508-512
32. COCHRANE, G.M. und T.J.H. CLARK (1975): A survey of asthma mortality in patients between ages 35 and 64 in the greater London hospitals in 1971.
Thorax 30, 300-305
33. COLLIER, H.O.J., J.A. HOLGATE, M. SCHACHTER, P.G. SCORLEY (1960): The bronchoconstrictor action of bradykinin in the guinea pig.
Brit. J. Pharmacol. 15, 290
34. COMAISH, S. (1969): Autoradiographie studies of hair growth in various dermatoses: investigation of possible circadian rhythm in human hair growth.
Br. J. Derm. 81, 283-288

35. CONNOLLY, C.K. (1979): Diurnal rhythms in airway obstruction,
Br. J. Dis. Chest. 73, 357-366
36. CONNOLLY, M.E. and J.K. GREENACRE (1976): The lymphocyte beta-adrenoceptor in normal subjects and patients with asthma: the effect of different forms of treatment on receptor function.
J. Clin. Inv. 58, 1307-1316
37. CONROY, M.C., N.F. ADKINSON, L.M. LICHTENSTEIN (1977): Measurement of IgE on human basophils: Relation to serum IgE and anti-IgE-induced histamine release.
J. Immun. 118, 1387
38. COX, J.S.G. (1967): Disodium cromoglycate (FPL 670) (Intal): a specific inhibitor of reaginic antibody-antigen mechanisms.
Nature 216, 1328-1329
39. CZARNETZKI, B.M. (1982): Der eosinophil und neutrophil chemotaktische Factor (ECF) aus menschlichen Granulozyten.
Allergologie 5, 131-133
40. CZARNETZKI, B.M. und G. KRÜGER (1984): Die Mastzelle als eine Differenzierungsform des Makrophagen.
Allergologie 1, 4-9
41. DAHLIN, S.E., G. HANSSON, P. HEDQVIST, TH. BJÖRCK, E. GRANSTROM, B.DAHLIN (1983): Allergen challenge of lung tissue from asthmatics elicits bronchial contraction that correlates well with the release of leukotrienes C₄, D₄ and E₄.
Proc. Natl. Acad. Sci. 80, 1712
42. DAWSON, W., J.R. BOOT, A.F. COCKRILL, D.N.B. MALLIN, D. J. OSBORNE (1976): Release of novel prostaglandins and thromboxanes after immunological challenge of guinea pig lung.
Nature 262, 699-702
43. DEES, S. (1974): The role of gastroesophageal reflux in nocturnal asthma in children.
N. C. Med. J. 35, 230-233
44. FAIRFAX, A.J. (1984): Management of nocturnal asthma. Abstracts of Scientific Papers. 3rd Congress of the European Society of Pneumology.
45. FAIRFAX, A.J., W.R. MC NABB, H.J. DAVIES and S.G. SPIRO (1980): Slow release oral salbutamol and aminophylline in nocturnal asthma: relation of overnight changes in lung function and plasma drug levels.
Thorax 35, 526-530

46. FELDBERG, W. (1956): Distribution of histamine in the body.
In: Ciba Foundation Symposium on Histamine, 4-13 (Wolstenholme, G.E.W. und C.M.O'Connor, Hrsg.) Little Brown and Co. , Boston.
47. FORMAN, J.C. (1981): The pharmacological control of immediate hypersensitivity.
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 21, 63
48. GALANT, S.P., L. DURISSETI, S. UNDERWOOD und P.A. INSEL (1978): Decreased beta-adrenergic receptors on polymorphonuclear leucocytes after adrenergic therapy.
N. Eng. J. Med. 229, 933-936
49. GIERTZ, H. (1983): Mediatoren der Entzündung und Allergie ; Arzneimittelallergie.
In: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. (Forth, W., D. Henschler, W. Rummel, Hrsg.) Wissenschaftsverlag
50. GINSBURG, H. und L. SACHS (1963): Formation of mast cells in tissue culture by differentiation of lymphoid cell from the mouse thymus.
J. Natl. Cancer Inst. 31, 1
51. GOETZE, D., W. DIAS DA SILVA (1980): Immunity.
In : Fundamentals of Immunology, 324-326 (Bier, Dias da Silva, Götze, Mota, Hrsg.) Springer Verlag
52. GOODAL, R.J.L., J.E. EARLES, D.N. COOPER, A. BERSTEIN, J.G. TENEPLE (1981): Relationship between asthma and gastro-oesophageal reflux.
Thorax 36, 116-121
54. GREEN, J.P..(1962): Binding of some biogenic amines in tissue.
Adv. Pharmacol. 1, 349-422
54. GREENING, A. (1984): The role of theophylline in the management of nocturnal asthma.
Abstracts of Scientific Papers. 3rd Congress of European Society of Pneumology.
55. HAMBERG, M., J. SVENSSON; B. SAMUELSSON (1975): Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides.
Proc. Natl. Acad. Sci. 72, 2994-2998
56. HAMBURGER, R.N. (1975): Peptide inhibition of the Prausnitz-Küstner reaction.
Science 189, 389

57. HANAHAN, D.J., C.A. DEMOPOULOS, J. LIEHR, R.N. PINCKARD (1980): Identification of platelet activating factor isolated from rabbit basophils as acetyl glyceryl ether phosphorylcholine.
J. Biol. Chem. 255, 5514- 5516
58. HASTIE, R., PH.D. CHIR, J.H. HEROY, D.A. LEVY (1979): Basophil leucocytes and mast cells in human nasal secretion and scrappings studied by light microscopy.
Lab. Invest. 40, 554
59. HELLBRÜGGE, T., J. PECHSTEIN, R. ULLNER, K. REINDL (1967): Zum Verständnis der Periodik-Analyse in der Medizin.
Fortschr. Med. 85, 289-295
60. HEMSTEDT, B.L., C.W. PARKER, A. KULCZYCKI (1979): Characterization of the IgE-receptors isolated from human basophils.
J. Immunol. 123, 2283
61. HERXHEIMER, H. (1977): Klinische Pharmakologie der Antihistamine.
Arzneimittelbrief 11, 1
62. HERZOG, H. (1983): Antihistaminika und Ketotifen.
In: Mastzellenprotektion
Dustri Verlag, München.
63. HETZEL, M.R. und T.J.H. CLARK (1979): Does sleep cause nocturnal asthma ?
Thorax 34, 749-754
64. HETZEL, M.R. und T.J.H. CLARK (1980): Comparison of normal and asthmatic circadian rhythms in peak expiratory flow rate.
Thorax 35, 732-738
65. HETZEL, M.R., T.J.H. CLARK, M.A. BRANTHWAITE (1977): Asthma: analysis of sudden deaths and ventilatory arrest in hospital.
Br. Med. J. 1, 1808-1811
66. HIRATA, F., J.AXELROD, F.D. CREWES (1979): Concanavalin A stimulates phospholipid methylation and phosphatidylserine decarboxylation in rat mast cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. 76, 4813
67. HIRATA, F., E. SCHIFFMAN, K. VENKATASUBRAMANIAN, D. SALOMON; J.AXELROD (1980): A phospholipase A₂ inhibitory protein in rabbit neutrophils induced by glucocorticoids.
Proc. Natl. Acad. Sci. 77, 2533-2536

68. HOLGATE, S.T., R.A. LEWIS, K.F. AUSTEN (1981): Mast cell activation and secretion.
In: New Trends in Allergy, 9
(Ring, J. und G. Burg, Hrsg.) Springer Verlag, Berlin
69. HOLGATE, S.T., M.K. CHURCH (1984): Mediator release from human lung mast cells.
Respiration 46, Suppl. 1, 22
70. HOLGATE, S.T. R.A. LEWIS, K.F. AUSTEN (1980): Role of adenylate cyclase in immunologic release of mediator from rat mast cells: Agonist and antagonist effects of purine- and ribose-modified adenosine analogs.
Proc. Natl. Acad. Sci. 77, 1800
71. HUTCHCROFT, B.J., E.G. MOORE, R.P. ORANGE (1979): The effects of H_1 and H_2 receptor antagonism on the response of monkey skin to intradermal histamine, reverse-type anaphylaxis, and passive cutaneous anaphylaxis.
J. Allergy Clin. Immunol. 63, 376-382
72. ISHIZAKA, T. (1982): Biochemical analysis of triggering signals induced by bridging of IgE-receptors.
Fed. Proc. 41, 17-21
73. ISHIZAKA, T., F. HIRATA, A.R. STERK, K. ISHIZAKA, J.A. AXELROD (1981): Bridging of IgE receptors activates phospholipid methylation and adenylate cyclase in mast cell plasma membranes.
Proc. Natl. Acad. Sci. 78, 6812
74. ISHIZAKA, T., C.S. SOTO, ISHIZAKA, K. (1973): Mechanisms of passive sensitization. III. : Number of IgE molecules and their receptor sites on human basophil granulocytes.
J. Immunol. 111, 500
75. ISLAM, M.S. und W.T. ULMER (1974): Prostaglandin F_2 als Bronchokonstriktor.
Respiration 31, 332
76. JONES, R.G. (1966): Chemistry of histamine and analogs relationship between structure and pharmacological activity.
In: Handbook of experimental pharmacology. Histamine and Anti-Histaminics. Part 1, 1-6
(Eichler, O., A. Farah, Hrsg.)
Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York.
- 76* KAGEY-SOBOTKA, A., D.W. MC GLASHAN, L.M. LICHTENSTEIN (1982): Role of receptor aggregation in triggering IgE-mediated reaction.
Fed. Proc. 41, 12

77. KALES, A., G.N. BEALL, G.F. BALOR, A. JACOBSEN, J.D. KALES (1968): Sleep studies in asthmatic adults: relationship of attacks to sleep stage and time of night.
J.Allergy 41, 164-173
78. KALINER, M. (1977): Human lung tissue and anaphylaxis. Evidence that cyclic nucleotides modulate the immunological release of mediators through effects on microtubular assembly.
J. Clin. Invest. 60, 951
79. KALINER, M. (1980): Is a mast cell a mast cell ?
Allergy Clin. Immunol. 66, 1
80. KARIMAN, K. und R.J. LEFKOWITZ (1977): Decreased beta-adrenergic receptor binding in lymphocytes from patients with bronchial asthma.
Clin. Research 25, 306
81. KAUKEL, E., C. SCHRUM, G. KOPPERMANN (1984): Circadian rhythm of the pharmacokinetic of theophylline.
Respiration 46, Suppl. 1, 25
82. KAWABORI, S., T. UNNO, M. OKUDA, H. OTSUKA (1981): Electron microscopic studies of basophilic cells in allergic nasal secretion and mucous membranes.
RhinoLOGY 19, Suppl. 1, 115
83. KELLER, R. (1966): Tissue mast cells in immune reactions. In: Monographs in Allergy.
Karger Verlag, Basel New York.
84. KIERNAN, J.A. (1979): Production and life span of cutaneous mast cells in young rats.
J. Anat. 128, 225
85. KONIETZKO, N. (1984): Mucocilliary function and theophylline. Abstracts of Scientific Papers. 3rd Congress of European Society of Pneumology.
86. KÖNIG, W. (1982): Die Arachidonsäure: Informationsträger bei der Entzündungsreaktion zwischen Mastzellen und Eosinophilen.
Allergologie 5, 151-155
87. KÖNIG, W., A. BOHN, K.D. BREMM, J. BROM, K.THEOBALD, B. SPUR, A. CREA (1983): Die Rolle der Mastzelle bei allergischen und entzündlichen Erkrankungen.
Prax. Klin. Pneumol. 37, 127-138
88. KÖNIG, W., C.KROEGEL, G. MÖLLER, H.TESCH, K. THEOBALD, A. BOHN (1980): Interzelluläre Regulation der allergischen Reaktion durch Mastzellen, Eosinophilen und Netrophilen.
Krankenhausarzt 53, 29-35

89. KÖNIG, W., F. PFEIFFER, H.W. KUNAU (1981): Effect of arachidonic acid metabolites on the histamine release from human basophils and rat mast cells.
Int. Arch. Allergy appl. Immun. 66, Suppl. 1, 149
90. KÖNIG, W., PH. PFEIFFER, B. SZPERALSKI, A. BOHN (1981): Membrane biochemical events in mast cell and basophil activation and secretion.
Behring-Inst. Mitt. 68, 30
91. KÖNIG, W., K. THEOBALD, G. MÖLLER, PH. PFEIFFER, A. BOHN (1981): The IgE-receptor.
In: New Trends in Allergy. (Ring, J. und G. Burg, Hrsg.) Springer Verlag, Berlin.
92. KREMNZER, L.T. und I.B. WILSON (1961): A procedure for the determination of histamine.
Biochem. biophys Acta 50, 364
93. KUNKEL, G. R. RUDOLPH, B. BLOHM und U. MEYSEL (1981): Langzeitbehandlung obstruktiver Atemwegserkrankungen.
Pharmakotherapie 5, 206-214
94. KUNKEL, G., J. SCHUPP, K. BÖRNER, D. LASIUS, U. MEYSEL (1983): Untersuchungen zur Theophyllinwirkung unter besonderer Berücksichtigung der Tagesrhythmik.
Therapiewoche 33, 1113-1123
95. LAURENCE, D.R., P.N. BENNETT (1980): Histamine and histamine H_1 and H_2 -receptor antagonists.
In: Clinical Pharmacology, 724-735
Churchill-Livingstone.
96. LEVY, D.A. (1974): Histamine and serotonin.
In: Mediators of inflammation. (Weiman, G. Hrsg.) Plenum Press, New York-London.
97. LEWIS, R.A. und K.F. AUSTEN (1981): Mediation of local homeostasis and inflammatory by leukotrienes and other mast cell-dependent compounds.
Nature, 293, 103
98. LEWIS, R.A., S.T. HOLGATE, J. ROBERTS, J.F. MAGUIRE, J.A. OATES und K.F. AUSTEN (1979): Effects of indomethacin on cyclic nucleotide levels and histamine release from rat serosal mast cells.
J. Immunol. 123, 1633
99. LICHTENSTEIN, L.M. (1975): The mechanism of basophil histamine release induced by antigen and by the calcium ionophore A 23187
J. Immunol. 114, 1692-1699
100. LICHTENSTEIN, L.M. und S. MARGOLIS (1968): Histamine release in vitro: Inhibition by catecholamines and methylxanthines.
Science 161, 902

101. LICHTENSTEIN, L.M., P.S. NORMAN, W.L. WINKENWERDR (1971):
A single year of immunotherapy for ragweed hay fever.
Immunologic and clinical studies.
Ann. Intern. Med. 75, 663
102. LILJA, B. und S.E. LINDELL (1961): Metabolism of ¹⁴C-histamine in heart-lung liver preparation of cats.
Brit. J. Pharmacol. 16, 203
103. LONDOS, G., D.M.F. COOPER, J. SOLFF (1980): Subclasses of external adenosine receptors.
Proc. Natl. Acad. Sci. 72, 2551-2554
104. LOPES, J.M., E. TABACHNIK, N.L. MÜLLER, H. LEVINSON, A.C. BRYAN (1983): Total airways resistance and respiratory muscle activity during sleep.
J. Appl. Physiol. 54, 773-777
105. LORENZ (1973): A phylogenetic study on the occurrence and distribution of histamine in the gastro-intestinal tract and other tissue of man and various animals.
Comp. Gen. Pharmacol. 4, 229-250
106. MAGNUSSEN, H. und M. LITT (1984): Selbstkontrolle der Lungenfunktion beim Asthma bronchiale: das Peak-flow-Meter.
Dtsch. med. Wsch. 109, 1529-1533
- 106* MANSFIELD, L.E., M.R. STEIN (1978): Gastro-oesophageal reflux and asthma: a possible reflex mechanism.
Ann. Allergy 41, 224-226
107. MARONE, G., S. HAMMARSTÖM, L.M. LICHTENSTEIN (1980): An inhibitor of lipoxigenase inhibits histamine release from human basophils.
Clin. Immunol. Immunopathol. 17, 117-122
108. MARONE, G., A. KAGEY-SOBOTKA, L.M. LICHTENSTEIN (1979): Effect of arachidonic acid and its metabolites on antigen induced histamine release from human basophils in vitro.
J. Immunol. 123, 1669
109. MARONE, G., A. KAGEY-SOBOTKA, L.M. LICHTENSTEIN (1981): IgE-mediated histamine release from human basophils: difference between antigen E- and anti-IgE-induced secretion.
Int. Arch. All. Appl. Immunol. 65, 339-348
110. MARONE, G., A. KAGEY-SOBOTKA, L.M. LICHTENSTEIN (1981): Possible role of phospholipase A₂ in triggering histamine secretion from human basophils in vitro.
Clin. Immunol. Immunopathol. 20, 231-239

111. MARTIN, U. und D. ROEMER (1977): Ketotifen: a histamine release inhibitor.
Monogr. Allergy 12, 145-149
112. MAUNSELL, K. D.G. WRAITH, A.M. CUNNINGTON (1968): Mites and house-dust allergy in bronchial asthma.
Lancet I, 1267-1270
113. MAY, C.D., M. LYMAN, R. ALBERTO, N. ADUNA (1972): Immunochemical effects of injection therapy with allergens by customary and intensive dosage regimens in children.
Pediatrics 49, 536
114. VON MAYERSBACH, H. (1978): Die Zeitstruktur des Organismus.
Arzneimittelforsch. 28, 1824-1836
115. MC FADDEN JR. E.R., R. KISER, W.J. DE GROOT (1973): Acute bronchial asthma. Relation between clinical and physiologic manifestation.
N. Eng. J. Med. 288, 221
116. MC GIVNEY, A., Y. MORITA, F.T. CREWS, F. HIRATA, J. AXEL-ROD, R.P. SIRAGANIAN (1981): Phospholipase activation in the IgE-mediated and Ca^{2+} -ionophore A 23187 induced release of histamine from rat basophilic leukemia cells.
Arch. Biochem. Biophysics 212, 572-580
117. MC GOVERN, J.P., M.H. SMOLENSKY, A. REINBERG (1977): Circadian and circamensual rhythmicity in cutaneous reactivity to histamine and allergenic extracts.
In: Chronobiology in allergy and immunology.
(Mc Govern, J.P., M.H. Smolensky, A. Reinberg, Hrsg.)
Ch. C. Thomas, Springfield-Illinois.
118. MC INTIRE, F.C. (1966): Determination of histamine by chemical means.
In: Handbook of experimental pharmacology. Histamine and Anti-Histaminics Part 1
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
119. MILLS, J.E., J.G. WIDDICOMBE (1970): Role of the vagus nerves in anaphylaxis and histamine-induced bronchoconstriction in guinea pigs.
Br. J. Pharmac. 39, 724-731
120. MOLKHOV, P., M. CHAUSSAIN, F. BERNARD, C. DUPONT (1984): Importance of Gastroesophageal Reflux (GER) among allergic children with recurrent bronchial asthma attacks: therapeutic implications.
Respiration 46, Suppl. 1, 37

121. MONTPLASIR, J., J. WALS, J.L. MALO (1982): Nocturnal asthma : feature of attacks ,sleep and breathing patterns.
Am. Rev. Respir. Dis. 125, 18-22
122. MOORE-EDE, M.C., C.A. CZEISLER, G.S. RICHARDSON (1983): Circadian timekeeping in health and disease.
Part 1. Basic properties of circadian pacemakers.
N. Eng. J. Med. 309, 470
123. MOTA, I. (1980): Tissue and cells of the immune system
In: Fundamentals of Immunology (Bier, Dias da Silva, Götze, Mota, Hrsg.)
Springer Verlag, New York-Heidelberg-Berlin.
124. MURPHY, E. (1984): The use of a controlled-release theophylline preparation given at night in asthmatic patients
Abstracts of Scientific Papers. 3rd Congress of European Society of Pneumology.
125. MURPHY, R.C., S. HAMMARSTRÖM, B. SAMUELSSON (1979): Leukotrien C: a slow reacting substance from murine mastocytoma cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. 76, 4275-4279
126. NATHAN, R.A., N. SEGALL, G.C. GLOVER, A.L. SCHOCKET (1979): The effects of H₁ and H₂ antihistamines on histamine inhalation challenge in asthmatic patients.
Amer. Rev. resp. Dis. 120, 1251-1258
127. NELSON, H.S., D. RAINE, H.C. DONER (1977): Subsensitivity to bronchodilator action of albuterol produced by chronic administration.
Am. Rev. Resp. Dis. 116, 871-878
128. NEWMAN TAYLOR, A.Y., R.J. DAVIES, D.J. HENDRIK, J. PEPYS (1979): Recurrent nocturnal asthmatic reaction to bronchial provocation tests.
Clin. Allergy 9, 213-219
129. NORMAN, P.S., L.M. LICHTENSTEIN, K. ISHIZAKA (1973): Diagnostic tests in ragweed hay fever. A comparison of direct skin tests, IgE antibody measurements and basophil histamine release.
J. Allergy Clin. Immunol. 52, 210-224
130. OSSWALD, H. (1982): Die Theophyllinwirkung in therapeutischen Dosen als Antagonismus zum endogenen Adenosin.
In: Theophylline and other methylxanthines.
(Rietbrock, N.R., B.G. Woodcock, A.H. Staib. Hrsg.)
Vieweg, Braunschweig-Wiesbaden.

131. ÖRNING, L., S. HAMMARSTRÖM (1980): Inhibition of leukotriene C and leukotriene D biosynthesis.
J. Biol. Chem. 255, 8023-8026
132. ÖRNING, L., S. HAMMARSTRÖM, B. SAMUELSSON (1980):
Leukotriene D: a slow reacting substance from rat
basophilic leukemia cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. 77, 2014-2017
133. PACHECO, Y., P. BENSOUSSAN, N. BIOT, P. DUPRAT, P. PON-
LUPT, C. REY, H. PACHECO (1984): Inhibition by Ke-
totifen of phospholipid methylation in leucocytes
from allergic subjects.
Respiration 46, Suppl. 1, 41
134. PARWARESH, M.R. (1976): The human blood basophil.
Morphology, origin, kinetics function and patholo-
gy.
Springer Verlag, Heidelberg-New York.
135. PEARCE (1984): Die Stimulus-Sekretion-Kopplung in der
Mastzelle.
Allergologie 1, 27-29
136. PETERS, S.P., M.I. SIEGEL, A. KAGEY-SOBOTKA, L.M. LICH-
TENSTEIN (1981): Lipoxxygenase products modulate
histamine release in human basophils.
Nature 292, 455-457
137. PETERS, S.P., M.I. SIEGEL, R. SCHLEIMER, G. MARONE, A.
KAGEY-SOBOTKA, L.M. LICHTENSTEIN (1983): Lipoxyge-
nase products of arachidonic acid: role in modula-
tion of IgE-induced histamine release.
In: Leukotrienes and other lipoxxygenase products.
(Samuelsson, B., Paoletti, R., Hrsg.)
Raven Press, New York.
138. PLATTS-MILLS, T.A.E., E.B. MITCHELL, P. NOCK, E.R. TO-
VEY, H. MOSZORE, S.R. WILKINS (1982): Reduction of
bronchial hyperreactivity during prolonged aller-
gen avoidance.
Lancet II, 675-677
139. PRUZANSKY, J.J. (1980): Cellular aspects of immediate
hypersensitivity.
In: Allergic diseases. Diagnosis and management
(Patterson, R. Hrsg.)
J.B. Lippincot Company, Philadelphia-Toronto
140. RASMUSSEN, H (1970): Cell communication, calcium ion and
cyclic adenosine monophosphate.
Science 170, 405

141. RAVENSCROFT., K., E.L. HARTMANN (1968): The temporal correlation of nocturnal asthmatic attacks and the D-state.
Psychophysiol. 4, 396-397
142. REINBERG, A., J. GHATA, E. SIDI (1963): Nocturnal asthma attacks: their relationship to the circadian adrenal cycle.
J. Allergy 34, 323-330
143. REINBERG, A., E. SIDI, J. GHATA (1965): Circadian reactivity rhythms of human skin to histamine or allergen and the adrenal cycle.
J. Allergy 36, 273-283
144. REINBERG, A., Z. ZAGULA-MALLY, J. GHATA, F. HALBERG (1969): Circadian reactivity rhythm of human skin to house dust, penicillin, and histamine.
J. Allergy 44, 292-306
145. RILEY, J.F. (1953): Histamine in tissue mast cells.
Science 118, 332
146. RING, J (1984): Reaktionsbereitschaft (Releasability): veränderte Reaktionsmuster in der Freisetzung vasoaktiver Mediatoren.
Allergologie 2, 41-48
147. RING, J., D.A. MATHISON, R. O'CONNOR (1981): In vitro cyclic nucleotide responsivity of peripheral leucocytes and platelets in patients suffering from atopic dermatitis.
Int. Arch. Allergy appl. Immunol. 65, 1
148. RODBELL, M., M.C. LIN, Y. SALOMON, C. LONDOS, J.P. HARWORD, B.R. MARTIN, N. RENDELL, M. BERMAN (1975): Role of adenine and guanine nucleotide in the activity and response of adenylate cyclase systems to hormones: evidence for multisite transition states.
Adv. Cyclic Nucleotide Res. 5, 3-29
149. RODRIGUEZ, B., F. MAURESA, P. ROMERO (1984): Aminophylline in morning dippers.
Respiration 46, suppl. 1, 49
150. ROSSI, G.V. (1979): Histamine - A review of physiology and pharmacology. In: Histamine receptors.
(Yellin, T.O., Hrsg.).
S.P. Medical and scientific books, New York-London.
151. RUBINFELD, A.R., M.C.F. PAIN (1976): Perception of asthma.
Lancet I, 882

152. RUDOLPH, R. (1978): Erfahrungen in der ambulanten Therapie des Asthma bronchiale.
Allergologie 1, 207
153. SHIM, C.S. und M.H. WILLIAMS JR. (1980): Evaluation of the severity of asthma: patients versus physicians.
Amer. J. Med. 68, 11
154. SHORE, P.A., A. BURKHALTER, V.H. COHN (1959): A method for the fluorometric assay of histamine in tissue.
J. Pharmacol. exp. Ther. 127, 182
155. SIRAGANIAN, R.P. (1973): An automated continuous-flow system for the extraction and fluorometric analysis of histamine.
Anal. Biochem. 57, 383-394
156. SIRAGANIAN; R.P., A. MC GIVNEY, E.L. BARSUMIAN, F.T. CREWS, F. HIRATA, J. AXELROD (1982): Variants of the rat basophilic leukemia cell line for the study of histamine release.
Fed. Proc. 41, 30-34
157. SIRAGANIAN, R.P. und W.A. HOOK (1980): Histamine release and assay methode for the study of human allergy.
In: Manual of clinical immunology.
(Rose, N.R. und H. Friedman, Hrsg.)
American Society of Microbiology.
158. SNYDER, S.H., R.J. BALDESSARINI, J. AXELROD (1966):
A sensitive and specific enzymatic isotopic assay for tissue histamine.
J. Pharmacol. exp. Ther. 153, 544
159. SOUTAR, C.A., M. CARRUTHERS, C.A.C. PICKERING (1977):
Nocturnal asthma and urinary adrenaline and nor-adrenaline excretion.
Thorax 32, 677-683
160. SOUTAR, C.A., J. COSTELLO, O. IJADUOLA, M. TURNER-WARWICK (1975): Nocturnal and morning asthma. Relationship to plasma corticosteroids and response to cortisol infusion.
Thorax 30, 436-440
161. STEWART, I.C., G.B. RHIND, J.T. POWER, N.J. DOUGLAS, D.C. FLENLEY (1984): Nocturnal symptoms and sleep in adult asthmatics after terbutalin SA.
Respiration 46, Suppl. 1, 60
162. STROBEL, S., H.R.P. MILLER, A. FERGUSON (1981): Human intestinal mucosal mast cells: evaluation of fixation and staining techniques.
J. Clin. Pathol. 34, 851

163. SULLIVAN, A.L., P.M. GRIMLEY, H. MRTZGER (1971): Electron microscopic localization of immunoglobulin E on the surface membrane of human basophils. *J. Exp. Med.* 134, 1403
164. SULLIVAN, C.E., N. ZAMEL, L.F. KOZAR, A. MURPHY, E.A. PHILLIPSON (1979): Regulation of airway smooth muscle tone in sleeping dogs. *Am. Rev. Respir. Dis.* 119, 87-94
165. SULLIVAN, T.J., K.L. PARKER, A. KULCZYCKI JR., C.W. PARKER (1976): Modulation of cyclic AMP in purified rat mast cells. III. Studies on the effects of concanavalin A and anti-IgE on cyclic AMP concentrations during histamine release. *J. Immunol.* 117, 713-716
166. SULLIVAN, T.J., K.L. PARKER, W. STENSON, C. PARKER (1975): Modulation of cyclic AMP in purified rat mast cells. I. Responses to pharmacologic metabolic, and physical stimuli. *J. Immunol.* 114, 1473.
167. SYBRECHT, G.W. (1984): Nocturnal asthma and slow-release theophylline. Abstracts of Scientific Papers. 3rd Congress of European Society of Pneumology.
168. SZENTIVANYI, A. (1968): The beta-adrenergic theory of atopic abnormality in bronchial asthma. *J. Allergy* 42, 203-232
169. SCHACHTER, E.N., ST. BROWN, E. LACH, B. GERSTENHABER (1982): Histamine blocking agents in healthy and asthmatics subjects. *Chest* 82, 143-147
170. SCHADEWALD, H. (1980): Die Theorien über die Anaphylaxie und ihre experimentellen Begründungen. In: Geschichte der Allergie Band 1, 103-245 Dustri Verlag, München
171. SCHADEWALD, H. (1980): Asthma bronchiale. In: Geschichte der Allergie Band 2, 188-273 Dustri Verlag, München.
172. SCHÄYER, R.W. (1959): Catabolism of physiological quantities of histamine in vivo. *Physiol. Rev.* 39, 116-126
173. SCHILLING, W., J. SLAPKE (1984): Corticosteroid-like action of protease inhibitor in isolated airways preparations. *Respiration* 46, Suppl. 1, 54

174. SCHMUTZLER, W. und G. POBLETE-FREUND (1975): The effect of glucocorticoids and catecholamine on cyclic AMP and allergic histamine release in guinea pig lung. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.* 49, 209-212
175. SCHMUTZLER, W., G. POBLETE-FREUND, K. RAUCH, W. SCHOENFELD (1979): Response to immunological or cholinergic stimulation of isolated mast cells from man, guinea pig and rat. *Monogr. Allergy* 14, 288
176. TANIZAKA, Y., K. AKAGI, K.N. LEE, R.G. TOWNLEY (1983): Inhibitory effect of nifedipine and cromolyn sodium on skin reactions and ^{45}Ca uptake and histamine release in rat mast cells induced by various stimulation agents. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.* 72, 102-109
177. TAYLOR, D.R., D. DUFFIN, C.D. KINNEY, D.G. MC DEVITT (1983): Investigation of diurnal changes in the disposition of theophylline. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 16, 413-416
178. TOWNSHEND, M.M., und A.J. SMITH (1973): Factors influencing the urinary excretion of free catecholamines in man. *Clin. Sci.* 44, 253-265
179. UVNÄS, B. (1967): Mode of binding and release of histamine in mast cell granules from the rat. *Fed. Proc.* 26, 219
180. de VRIES, K., J.T. GOEI, H. BOOY-NOORD, N.G.M. ORIE (1962): Changes during 24 hours in the lung function and histamine hyperreactivity of the bronchial tree in asthmatic patients. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.* 20, 93
181. de WECK, A.L. (1980): Allergische Reaktionen vom Sofort-Typ: Wechselwirkungen zwischen Mediatoren und Zellen. *Schweiz. med. Wschr.* 110, 175
182. WEISS, E.B., M.S. SEGAL (1976): Bronchial asthma. Mechanism and therapeutics. Little Brown and Co., Boston
183. WEVER, R.A. (1973): Hat der Mensch nur eine innere Uhr? *Umschau* 75, 551-558
184. WEVER, R.A. (1974): Bedeutung der circadianen Periodik für das Alter. *Naturwiss. Rundsch.* 27, 475-479

185. WHITE, T. (1973): Effect of drugs on brain histamine.
In: International Encyclopedia of Pharmacology
and Therapeutics. Histamine and Antihistamine,
Section 74, Vol. 1, 101-107
Pergamon Press Ltd., Oxford
186. WINSLOW, C.M., K.F. AUSTEN (1982): Enzymatic regulation
of mast cell activation and secretion by adenylate
cyclase and cyclic AMP-dependent protein kinase.
Fed. Proc. 41, 22-29
187. ZIMMERMANN, I., A. BUGALHO DE ALMEIDA, W.T. ULMER (1980):
Plasma-Histaminkonzentrationen im Verlauf wider-
holter Antigenbelastung des broncho-pulmonalen Sys-
tems.
Res. Exp. Med. 177, 101-109
188. ZIMMERMANN; I., A. BUGALHO DE ALMEIDA, W.T. ULMER (1980):
Allergeninduzierte Atemwegsobstruktion und Hista-
minkonzentration im arteriellen wie venösen Plasma.
Res. Exp. Med. 177, 91-100
189. ZIMMERMANN, I. und W.T. ULMER (1978): Influence of low
concentration of allergens on bronchial systems.
Respiration 35, 87

9. LEBENS LAUF

Am 15. Juli 1956 wurde ich als Sohn des Kaufmannes Emanuel Jusuf und seiner Ehefrau Magdalena Salmun, in Jakarta - Indonesien geboren.

Im Jahre 1962 wurde ich in Jakarta eingeschult. Nach dem Besuch der Mittel- und der Oberschule bestand ich 1972 mein Abitur. Im Jahre 1973 lernte ich die deutsche Sprache am Goethe-Institut in Jakarta bevor ich nach Berlin im Mai 1974 kam.

Nach einem einsemestrigen Besuch des Studienkollegs der F.U. begann ich im Sommersemester 1975 das Medizin-Studium an der Freien Universität Berlin. Von 1980 bis 1981 absolvierte ich das praktische Jahr im Auguste Viktoria-Krankenhaus (Innere Medizin und Chirurgie) und in der Frauenklinik und Poliklinik der F.U. Berlin im Bereich des Klinikum Charlottenburg (Gynäkologie). 1981 bestand ich das medizinische Staatsexamen.

Von 1982 bis 1983 arbeitete ich als Hospitant in der Praxis von Dr. Khouw, Arzt für Lungen- und Bronchialheikunde und Allergologie. Von November 1983 bis April 1984 arbeitete ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter (Stipendium vom Centrum für internationale Migration und Entwicklung) in der Abteilung für klinische Immunologie und Asthma-Poliklinik der Freien Universität Berlin im Rudolf-Virchow-Krankenhaus unter Prof. Dr. med. G. Kunkel. Von August bis Ende Oktober 1984 arbeitete ich als Gastarzt in der AIDS-Beratungsstelle des Robert Koch-Instituts des Bundesgesundheitsamtes unter Prof. Dr. med. Meinrad A. Koch.

Herrn Prof.Dr.med. Gert Kunkel gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas und die hilfsbereite fachliche Betreuung nicht nur dieser Arbeit, sondern auch während meines Aufenthaltes in der Asthma-Poliklinik.

Auch allen anderen Mitarbeitern der Asthma-Poliklinik sei an dieser Stelle gedankt, besonders Frau Sladek und Frau Kirchhof für ihre Hilfe bei Prist- und Leukozytenbestimmungen.

Herrn Prof. Fuchs von der Abteilung für Medizinische Statistik und Auswertung der FU-Berlin danke ich für die Beratung in Fragen der statistischen Auswertung.

Nicht zuletzt danke ich meiner lieben Irene für ihre große Hilfe bei Literatursuche und -ordnen sowie beim Durchlesen dieser Arbeit.

